Aus dem Institut für Lebensmittelhygiene,
Fleischhygiene und -technologie
— Fachrichtung Lebensmittelhygiene —
des Fachbereichs Veterinärmedizin der
Freien Universität Berlin

Sensorische Analyse, mikrobiologischer Befund und D(-)-Lactat-Konzentration als Parameter zur Frischecharakterisierung von vakuumverpacktem Rindfleisch

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Joachim Wiegner
Tierarzt aus Nürnberg

Berlin 1985
Journal Nr. 1246

Aus dem Institut für Lebensmittelhygiene,
Fleischhygiene und -technologie,
- Fachrichtung Lebensmittelhygiene -
des Fachbereiches Veterinärmedizin der
Freien Universität Berlin

Sensorische Analyse, mikrobiologischer Befund und D(-)-Lactat-Konzentration als Parameter zur Frischecharakterisierung von vakuumverpacktem Rindfleisch

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Joachim Wiegner
Tierarzt aus Nürnberg

Berlin 1985
Journal Nr. 1246

Gedruckt mit Genehmigung des
Fachbereiches Veterinärmedizin der
Freien Universität Berlin

Fachbereichssprecher: Prof. Dr. F. Hörchner

Referent : Prof. Dr. H.-J. Sinell

Korreferent : Prof. Dr. E. Hellmann

Tag der Promotion: 21. Juni 1985

meinen Eltern

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549620_0020

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	EINLEITUNG	1
2.	LITERATUR	2
2.1	Vakuumverpackung von Frischfleisch	2
2.2	Faktoren mit Einfluß auf den mikrobiellen Verderb	4
2.2.1	pH-Wert	4
2.2.2	Nährstoffangebot	6
2.2.3	Anfangskontamination	7
2.2.4	Zerlegung	8
2.2.5	Verpacken unter Vakuum	10
2.2.6	Folienmaterial	11
2.2.7	Lagerungstemperatur	12
2.2.8	Lagerdauer	14
2.2.9	Gasspannung	14
2.2.10	Verderb, Definition und Abgrenzung	17
2.2.11	Lactat	18
3.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	20
3.1	M a t e r i a l	20
3.1.1	Probenauswahl	20
3.1.2	Hygienische Bedingungen	20
3.1.3	Verpackung	21
3.1.4	Probenumfang und Lagerungsbedingungen	22
3.1.5	Prüfung der aeroben Haltbarkeit	24

		Seite
3.2	M e t h o d i k	25
3.2.1	Bakteriologische Untersuchungen	25
3.2.1.1	Probennahme und Probenaufbereitung	25
3.2.1.2	Kulturverfahren	26
3.2.1.3	Auswertung und Berechnung der Keimzahl	28
3.2.2	Bestimmung des D-Lactats	29
3.2.2.1	Prinzip	30
3.2.2.2	Probenaufbereitung	30
3.2.2.3	Reagenzien und Bestimmungsansatz	31
3.2.2.4	Bestimmung und Leerwert	32
3.2.2.5	Berechnung der D-Lactatkonzentration nach dem LAMBERT-BEER'schen Gesetz	33
3.2.2.6	Empfindlichkeit	34
3.2.2.7	Präzision	34
3.2.2.8	Eichgerade	34
3.2.3	pH-Wert-Messung	38
3.2.4	Sensorische Untersuchungen	39
3.2.4.1	Erweiterte Dreiecksprüfung	39
3.2.4.1.1	Durchführung	40
3.2.4.1.2	Auswertung	40
3.2.4.1.3	Statistische Auswertung der Ergebnisse	43
3.2.4.2	Geruch, Farbe, Aufrötung und Farbhaltung des gelagerten Fleisches	43
3.2.4.2.1	Vakuumgelagerte Proben	43
3.2.4.2.2	Aerob gelagerte Proben	44
3.2.5	Prüfung von Zusammenhängen zwischen einzelnen Variablen	44
3.2.6	Vorversuch zur Ermittlung des Stichprobenfehlers zwischen den Packungen einer Charge	44

		Seite
3.3	E r g e b n i s s e	48
3.3.1	Keimstatus	48
3.3.1.1	Gesamtkeimzahl	48
3.3.1.2	Laktobazillen	51
3.3.1.3	Brochothrix thermosphacta	53
3.3.1.4	Enterobakteriazeen	53
3.3.1.5	Coliforme	56
3.3.1.6	Pseudomonaden	56
3.3.1.7	Hefen, Mikrokokken, Enterokokken	58
3.3.2	Lactat	60
3.3.3	pH-Wert	62
3.3.4	Sensorik	63
3.3.4.1	Unterschiedsprüfung	63
3.3.4.2	Intensitätsprüfung	63
3.3.4.3	Geruch, Farbe, Aufrötung der vakuumgelagerten Proben	66
3.3.4.4	Haltbarkeitsreserve bei aerober Lagerung	67
3.3.4.4.1	Geruch, Farbhaltung, Oberflächen-pH-Wert	67
3.3.5	Beziehung Variabler untereinander	68
3.3.5.1	SPEARMAN'scher Rangkorrelationskoeffizient r_s	68
3.3.5.2	Produkt-Moment-Korrelationskoeffizient	70
4.	DISKUSSION	71
4.1	Die Qualitätskriterien und ihr Verhalten untereinander	71
4.1.1	Keimstatus	71
4.1.2	Sensorik	74
4.1.3	Lactat	76
4.2	Zusammenhänge zwischen Fleisch und Fleischsaft	79

		Seite
4.3	Haltbarkeitsreserve	80
4.4	Rohmaterialbezogene Unterschiede	80
5.	ZUSAMMENFASSUNG	82
6.	SUMMARY	84
7.	LITERATURÜBERSICHT	86
8.	ANHANG	105

1. EINLEITUNG

Frisches Fleisch gehört aufgrund der idealen Wachstumsvoraussetzungen für Mikroorganismen zu den besonders leicht verderblichen Lebensmitteln. Um aber optimale Geschmackseigenschaften zu erzielen, ist es notwendig, frisch erschlachtetes Rindfleisch durch "Abhängen" reifen zu lassen. Die hierbei auftretenden Gewichtsverluste durch Abtrocknung und mikrobiell bedingte oberflächliche Veränderungen führen zum Teil zu erheblichen finanziellen Einbußen.

Die Vakuumverpackung ist ein Verfahren, bei dem Teilstücke in weitgehend gasundurchlässige Kunststoffolien verpackt, unter Vakuum verschlossen und anschließend bei Temperaturen von -1 bis +2 °C gelagert werden. Der Abschluß von Sauerstoff begünstigt die Entwicklung von erwünschten Mikroorganismen und hemmt unerwünschte Verderbniskeime.
Die Tätigkeit fleischeigener und mikrobieller Enzyme bewirkt im Laufe der Lagerung eine Aromatisierung und Verbesserung der Zartheit, die mit der konventionellen Fleischreifung durch "Abhängen" nicht erreicht werden kann. Gleichzeitig ist bei hygienisch gewonnenem Ausgangsmaterial eine Haltbarkeitsverlängerung von etwa 2 Wochen bei herkömmlicher Reifung auf ca. 6 Wochen ohne Qualitätseinbußen möglich.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, den fließenden Übergang von Reifung in Verderb bei vakuumverpacktem Rindfleisch objektiv zu erfassen und zu charakterisieren, indem das Verhalten von Mikroorganismen und deren Stoffwechselprodukt D(-)-Lactat in Beziehung zum sensorischen Befund von mehrere Wochen kühlgelagertem, vakuumverpacktem Rindfleisch gesetzt wurde. Die hierbei gewonnenen Erkenntnisse sollten einen Beitrag zu einer über den mikrobiologischen Befund hinausgehenden Qualitätsbewertung von vakuumverpacktem Rindfleisch liefern.

2. LITERATUR

2.1 Vakuumverpackung von Frischfleisch

Frisch erschlachtete Skelettmuskulatur vom Rind bedarf stets einer Reifungsphase, um optimale Verzehrseigenschaften auszubilden. Die "Umwandlung von Muskulatur in Fleisch" (LAWRIE 1966) bildet die Folge komplexer biochemischer und physikochemischer Vorgänge, welche von fleischeigenen Enzymen katalysiert werden (BENDALL 1979, BRISKEY et al. 1966, HAMM 1972). So führen eine Desintegration myofibrillärer Proteine durch Proteasen (HAMM 1972) sowie die Auflockerung kollagener Strukturen mittels lysosomaler Kathepsine (WRINSTANLEY 1979) zu einem kontinuierlichen Anstieg der Zartheit. Das beim ATP-Abbau auftretende Intermediärprodukt Inosinmonophosphat (IPM) wird von KUNINAKA et al. (1964) für die Geschmacksverbesserung bei gereiftem Fleisch verantwortlich gemacht (POTTHAST u. HAMM 1976). Der allmähliche pH-Anstieg im Verlaufe der Reifung bedingt nach anfänglicher Säuerung eine Zunahme des Wasserbindungsvermögens, indem sich das Verhältnis von "gebundenem Wasser" zu "freiem Wasser" zugunsten des immobilisierten Wassers verschiebt (HAMM 1972). Diese Veränderung drückt sich bei der Zubereitung des Fleisches durch Erhitzen, in geringerer Feuchtigkeitsabgabe und dadurch verbesserter Saftigkeit aus (WIRTH 1976).

Herkömmlich wurden Rinderhälften oder -viertel im Kühlraum durch Abhängen bei +2 °C und einer relativen Feuchte um 85 % für etwa 2 Wochen gereift (BÖHME 1981, TÄNDLER 1973, TÄNDLER u. HEINZ 1970a). Bei einer derartigen Behandlung treten erhebliche Gewichtsverluste durch Verdunstung auf. Oberflächliche Gewebsschichten trocknen manchmal so stark ab, daß sie wegen oxidativer Farb- und Geruchsabweichungen nicht mehr verwertbar sind und verworfen werden müssen (TÄNDLER 1973). Die Summe der Gewichtseinbußen liegt zwischen 4 und 7 % (EFFENBERGER u. SCHOTTE 1971, TÄNDLER 1976).

Werden Tierkörper zerlegt und in Teilstücken zur Bevorratung gelagert, so erhöhen sich die Verluste wegen der vergrößerten Oberfläche erheblich. Mit zunehmender Reifungs- bzw. Lagerungsdauer kommt es darüber hinaus zu einer Keimvermehrung, die zu äußerlichem Verderb in Form eines schmierigen Belages führt und zugleich die wirtschaftlichen Einbußen weiter erhöht (TÄNDLER u. HEINZ 1970a).

Die Vakuumverpackung hat sich als eine Möglichkeit erwiesen, die physikalischen und chemischen Einflüsse der Umwelt auszuschalten und somit die Nachteile der herkömmlichen Reifung und Lagerung zu umgehen. Hierbei werden entbeinte Fleischteilstücke in weitgehend gasdichte Folien verpackt, diese unter Vakuum verschlossen und als sogenannte "Fleischreifepackungen" bei -1 bis +2 °C kühlgelagert.

Mit wenigen Ausnahmen (MINKS u. STRINGER 1972) stimmen die meisten Autoren in der Feststellung überein, daß sich vakuumverpacktes Fleisch in Aroma und Zartheit den konventionell gereiften Kontrollproben überlegen erweist (BÖHME 1981, GUTKOWSKI et al. 1979, HEINZ 1974, HESS 1978, LEISTNER 1974, TÄNDLER 1973,1976, TÄNDLER u. HEINZ 1970a,1970b). Weil die Abgabe von Wasserdampf verhindert wird und Luftsauerstoff weitgehend ausgeschlossen bleibt, treten Abtrocknung oder oxidative Veränderungen nicht auf, und das Verarbeitungsfleisch läßt sich verlustfrei verwerten (TÄNDLER 1976). Jedoch sind auch bei Vakuumpackungen die Reifungs- und Lagerungsdauer begrenzt. Verderb wird zwar verzögert, aber nicht verhindert. Für die Beeinträchtigung der Verkehrs- und Verzehrsfähigkeit sind bei vakuumverpacktem Fleisch überwiegend mikrobielle Prozesse verantwortlich, während chemische oder physikalische Einflüsse eine untergeordnete Rolle spielen (BRANEN 1979, INGRAM 1962,1971, LEISTNER 1981, VASILIEVA et al. 1979).

Die erhöhte Lagerfähigkeit unter anaeroben Milieubedingungen basiert auf der Entwicklung einer Mikroflora, deren Zusammensetzung sich erheblich von der unter Luftzutritt gereiften oder gelagerten Fleisches unterschei-

det (TÄNDLER u. HEINZ 1970a). Durch den Entzug von Sauerstoff werden insbesondere gramnegative Keime, welche die fleischspezifische Verderbsflora darstellen, in ihrer Entwicklung gehemmt (INGRAM 1962, PATTERSON u. SUTHERLAND 1973). Grampositive Mikroorganismen, hier vor allem die Laktobazillen, finden hingegen günstige Wachstumsbedingungen und entwickeln sich zur dominierenden Flora (GRAU 1978, PIERSON et al. 1970, ROTH u. CLARK 1972). Außer der Sauerstoffspannung bestimmen aber noch andere Faktoren Art und Umfang des mikrobiellen Verderbs. Eine von MOSSEL (1971) publizierte Zusammenstellung zeigt Tab. 1. Hierin sind alle Einflußgrößen hervorgehoben, die bei vorgegebener initialer Kontamination von entscheidender Bedeutung für die Haltbarkeit vakuumverpackten Fleisches sind.

INTRINSIC-FACTORS	PROCESSING-FACTORS	EXTRINSIC-FACTORS
pH-Wert	Zerlegetechnik	Lagerungstemperatur
Nährstoffangebot	Verpacken und Evakuieren	Lagerdauer
a_w-Wert	Folienmaterial	Gasspannung
Redoxpotential		
Struktur		

Tabelle 1: Verderbsbestimmende Faktoren bei vakuumverpacktem Rindfleisch (mod. nach MOSSEL 1971).

2.2 Faktoren mit Einfluß auf den mikrobiellen Verderb

2.2.1 pH-Wert

Unter den Intrinsic-Faktoren verdient der pH-Wert besondere Beachtung, weil hier innerhalb des Rohstoffes Fleisch eine ausgeprägte biologische Variabilität besteht, die ihrerseits die Bakterienflora entscheidend beeinflußt. Die meisten Mikroorganismen besitzen ihr Wachstumsoptimum im

Neutralbereich und werden bei Werten über pH 9,0 bzw. unter pH 4,0 gehemmt. Bei gesunden, ausgeruhten Rindern sinkt der pH-Wert innerhalb 24 Stunden nach der Schlachtung infolge der postmortalen Glykolyse und der damit verbundenen Milchsäurebildung von etwa 7,0 im lebenden Muskel auf 5,7 bis 5,4 ab (HAMM 1972). Sind die Kohlenhydratreserven bereits intra vitam durch erhöhte Stoffwechselbelastung - insbesondere Transportstreß und/oder Hunger - erschöpft, steht nach dem Tode nur wenig Glykogen für die Umwandlung in Milchsäure (Lactat) zur Verfügung. Durch unzureichende Säurebildung entsteht ein Fleisch, das wegen seiner hohen Wasserbindungskapazität als Dark-Firm-Dry (DFD*) oder Dark-Cutting-Beef (DCB) bezeichnet wird. Als Grenze zur einwandfreien Fleischqualität geben die einzelnen Autoren recht unterschiedliche Werte an, so daß sich in der Literatur Limits für den pH_2 (End-pH-Wert, ultimate-pH, pH_{24}) zwischen 6,0 und 6,5 finden.

DFD-Muskulatur soll generell nicht zur Bevorratung und folglich auch nicht zur Vakuumlagerung eingesetzt werden, denn sie verdirbt schneller als Fleisch mit normalem Ablauf postmortaler Prozesse (BEM et al. 1976, DAINTY 1981, DAINTY et al. 1979, FOURNAUD u. VALIN 1978, GORNA 1980, TAYLOR u. SHAW 1977). Durch die niedrige H^+-Ionenkonzentration werden Keime wie Enterobacter liquefaciens und Alteromonas putrefaciens, die bei vakuumverpacktem Fleisch mit pH-Werten um 5,6 gehemmt werden und daher nicht zur typischen Verderbsflora gehören und auch Yersinia enterocolitica in ihrer Vermehrung begünstigt (GILL u. NEWTON 1979, GRAU 1981, NEWTON u. GILL 1981, SEELYE u. YEARBURY 1979). Darüber hinaus weisen Pseudomonaden eine verkürzte lag-Phase auf, weshalb das logarithmische Wachstum früher einsetzt (NEWTON u. GILL 1981).

---

* in der Folge als Abkürzung verwendet

2.2.2 Nährstoffangebot

Wegen des direkten Sauerstoffangebotes sowie der vielfältigen Möglichkeiten einer Sekundärkontamination aus der Umwelt findet mikrobielles Wachstum bei Fleisch hauptsächlich an der Oberfläche statt. Die maximal erreichbare Keimzahl wird daher von der Diffusionsrate verwertbarer Substrate aus tieferen Gewebsschichten bestimmt (GILL 1976). Als niedermolekulare Substanz wird Glucose von der Mehrzahl vorhandener Keime bevorzugt verwertet. Erst die Erschöpfung der Kohlenhydrate verursacht einen Wechsel des bakteriellen Metabolismus und beeinflußt gleichzeitig die Zusammensetzung der Verderbsflora (BEYER 1979).
Dieser Übergang von einer primären Verderbsphase (SINELL 1980) in den eigentlichen Verderb geht mit dem mikrobiellen Abbau von Aminosäuren einher und ist durch das Auftreten von sensorisch wahrnehmbaren Abweichungen wie Fäulnisgeruch ("Off-odor, spoilage-odor") gekennzeichnet (GILL 1976). Somit bestimmt das Ausmaß der Kohlenhydratreserve unmittelbar die zu erwartende Haltbarkeit. Derartige Beziehungen gelten schon für aerob gelagertes Fleisch. Sie treffen aber mehr noch für vakuumverpackte Ware zu, weil das mikroaerobe bzw. anaerobe Milieu das Wachstum der glykolytischen, grampositiven Flora fördert.

NEWTON u. GILL (1978) untersuchten die Glucosegehalte von Rindfleisch mit verschiedenen pH_{24}-Werten und fanden mit ansteigenden pH-Werten eine Abnahme der Glucosekonzentration. Bei pH 5,40 bis 5,49 lag der durchschnittliche Glucosegehalt bei 118 mg/kg, bei pH 6,30 bis 6,39 zeigten sich lediglich 5 mg/kg, und bei pH 6,40 war keine Glucose mehr nachweisbar.

Der Zusammenhang zwischen pH-Wert und Glucosekonzentration erklärt den beschleunigten Verderb von Fleisch mit DFD-Kondition. Unter Umgehung der primären Verderbsphase setzen in solchen Fällen unverzüglich die Abbauvorgänge an den Aminosäuren ein und führen entsprechend früher zu organoleptisch faßbaren Fäulniserscheinungen (NEWTON u. GILL 1978). Weil die hierfür notwendigen Desaminasen normalerweise durch Glucose in ihrer Wirksamkeit beeinträchtigt werden (GALE 1951 - zit. nach DAINTY et al. 1979),

ist die Keimdichte von geringerer Bedeutung als der Zeitpunkt der Glucoseerschöpfung (NEWTON u. GILL 1978). Des weiteren stimuliert die Kombination von hohem pH-Wert und niedriger Glucosekonzentration die Bildung flüchtiger Fettsäuren durch Milchsäurebakterien und Brochothrix thermosphacta (DAINTY u. HIBBARD 1981). Im Gegensatz zur Situation bei unverpackt gelagertem Rindfleisch, dessen fettüberzogene Oberflächen mikrobiologisch verhältnismäßig stabil sind, unterscheidet sich die mikrobielle Entwicklung auf Fettoberflächen von vakuumverpacktem Fleisch nur unwesentlich von der auf Fleischoberflächen. Durch den Flüssigkeitsaustritt aus der Muskulatur ist Fett immer von einem Fleischsaftfilm bedeckt, in dem sich das mikrobielle Wachstum vollzieht (GILL u. NEWTON 1980). GRAU (1983) fand hingegen signifikante Unterschiede im Wachstumsverhalten von Enterobakteriazeen und Brochothrix thermosphacta auf Fett- bzw. Fleischoberflächen.

Struktur, a_w-Wert und Redoxpotential des Fleisches stellen Intrinsic-Faktoren dar, die zwar Einfluß auf das Verderbsgeschehen nehmen, bei vakuumverpacktem Frischfleisch jedoch weniger variabel sind und folglich gegenüber pH-Wert und Nährstoffangebot in ihrer Bedeutung zurücktreten.

2.2.3 Anfangskontamination

Das Fleisch gesunder Tiere kann im allgemeinen als weitgehend keimfrei gelten (GILL 1979). Während des Schlachtvorganges kommt es jedoch zu einer mikrobiellen Kontamination der Oberfläche des Tierkörpers, die überwiegend von der Haut bzw. dem Fell der Schlachttiere und vom Klauenschmutz ausgeht (GILL u. NEWTON 1978). Zusätzliche Kontaminationsquellen stellen die menschliche Bearbeitung, Wasser, Boden, Luft, Staub, Insekten und Darminhalt dar. Neben der vom Schlachtschnitt ausgehenden Kontamination können durch die bei der Schlachtung verwendeten Geräte, zu denen Rückenmarkzerstörer, Bolzenschußapparat und Stechmesser gehören, Keime in den Blutstrom gelangen, die sich dann besonders in der Milz, aber auch in der Muskulatur ansiedeln (MACKEY u. DERRICK 1979). Ihre Bedeutung

für den Verderb hängt davon ab, wie lange das Immunsystem nach dem Tode persistiert (GILL 1979). Ein Übertritt von Keimen aus dem Intestinaltrakt über die Darmschranke in das Blut, wie er früher postuliert wurde (HAINES 1937), ist nach neueren Untersuchungen wenig wahrscheinlich (GILL et al. 1978).

Von der sehr gemischten Kontaminationsflora werden nur solche Keime selektiv anwachsen, die sich in der Kühlungsphase nach der Schlachtung vermehren können. Dazu zählt insbesondere die Pseudomonas-Acinetobacter-Moraxella-Assoziation als typischer Vertreter der psychrotrophen Verderbsflora von Frischfleisch (INGRAM u. DAINTY 1971). Weiterhin gehören Laktobazillen, Brochothrix thermosphacta und einige Enterobakteriazeen-Arten in diese Gruppe. Weniger häufig werden Stämme wie Flavobacterium, Alcaligenes, Vibrio, Aeromonas und Arthrobacter aus gekühltem Fleisch isoliert (INGRAM u. DAINTY 1971). Mit Ausnahme der Laktobazillen und Brochothrix thermosphacta handelt es sich bei den genannten Bakterien um gramnegative, eiweißzersetzende Mikroorganismen, deren Stoffwechselaktivität sich in einer für Fleisch charakteristischen Oberflächenfäulnis äußert. Unter den pathogenen Keimen erfuhr in den letzten Jahren Yersinia enterocolitica besondere Beachtung. Der Keim vermehrte sich noch bei +2 °C und ist auch aus Frischfleisch isoliert worden (JOHNSTON et al. 1982, GILL u. NEWTON 1979, HANNA et al. 1976, KENNEDY et al. 1982, SEELYE u. YEARBURY 1979, VANDERZANT et al. 1980). Der Befund ist insofern von Bedeutung, als dieser Keim wegen seiner psychrotrophen Wachstumseigenschaften auch auf Kühlfleisch ein Risiko darstellt. Lebensmittelinfektionen durch Yersinia enterocolitica auf Fleisch sind bisher allerdings noch nicht beschrieben.

2.2.4 Zerlegung

Tierkörperhälften oder -viertel sollen zum Zeitpunkt der Zerlegung ausgekühlt sein, d.h. eine Kerntemperatur von +2 °C bis +4 °C aufweisen

(TÄNDLER u. HEINZ 1970a). Damit durch den unvermeidlichen Temperaturanstieg während des Zerlegevorganges die Kernendtemperatur +6 °C nicht überschreitet, müssen Raumtemperaturen von etwa +10 °C bis +15 °C eingehalten werden. Bei stärkerer thermischer Belastung kommt es in Abhängigkeit von der relativen Feuchte bei Überschreiten des Taupunktes zur Bildung eines Kondenswasserniederschlages auf der Fleischoberfläche, der seinerseits eine Erhöhung des a_w-Wertes bedingt und somit günstigere Voraussetzungen für die Keimvermehrung schafft (TÄNDLER u. HEINZ 1970a). HESS et al. (1980) empfehlen das Entbeinen, Zurichten und Abpacken möglichst in einem kontinuierlichen Arbeitsgang durchzuführen.

Während der Zerlegung gelangen Oberflächenkeime auf die neu entstandenen Schnittflächen. Diese Sekundärkontamination muß durch regelmäßige Reinigung und Desinfektion der Hände und Geräte so gering wie möglich gehalten werden, weil die Zerlegehygiene einen entscheidenden Einfluß auf die Haltbarkeit des zu verpackenden Fleisches ausübt (CARPENTER et al. 1975, HEINZ 1974, TÄNDLER 1973, TÄNDLER u. HEINZ 1970a). Während TÄNDLER u. HÄHNE (1973) darauf hinweisen, daß sich die Kontaminationskette am besten beim Zerlegen selbst unterbrechen läßt, messen GREER u. JEREMIAH (1981) und WYATT u. GUY (1980) dem hygienischen Status des Betriebes weniger Bedeutung als der Lagerungstemperatur zu.

Um übermäßigen Fleischsaftaustritt während der Lagerung zu vermeiden, sollten beim Zerlegen möglichst wenig Muskelflächen angeschnitten werden. Unter diesem Gesichtspunkt empfiehlt es sich, die natürlichen Bindegewebszüge als Trennflächen zu nutzen, wodurch auch eine zusätzliche mechanische Barriere für Keime geschaffen wird, die von außen in die Muskulatur eindringen können (FOURNAUD et al. 1980, GILL u. PENNEY 1982). EFFENBERGER u. SCHOTTE (1971) verweisen hierzu auf die DLG- bzw. die Schweizer Schnittführung.

2.2.5 Verpacken unter Vakuum

Der Verpackungsvorgang mit simultaner Evakuierung soll ein weitgehend anaerobes Milieu gewährleisten. Zum Entfernen der atmosphärischen Luft aus den Beuteln dient der Einsatz von Dreh- und Sperrschiebervakuumpumpen, die Restdrücke von maximal etwa 0,5 mbar* (etwa 99,9 % Vakuum) erreichen. Aus wirtschaftlichen Erwägungen wird jedoch im Luftdruckbereich von 50 - 30 mbar (etwa 95 % Vakuum) gearbeitet, da sich ein höheres Vakuum mit den erwähnten Geräten und den anfallenden Gasmengen nur durch sehr lange Taktzeiten erreichen läßt. Für die Herstellung sogenannter "High-Vac"- oder "Hochvakuum"-Packungen werden spezielle Wälzkolbenpumpen (Roots-Pumpen) eingesetzt, die in kurzer Zeit Restluftdrücke zwischen 10 und 0,5 mbar erbringen können (WIESEL 1980). Nach der üblichen Nomenklatur ist die Bezeichnung Hochvakuum nicht gerechtfertigt, weil hierunter Drücke von 10^{-3} bis 10^{-7} mbar verstanden werden. Bei Fleischpackungen wird danach höchstens ein "Feinvakuum" (1 bis 10^{-3} mbar) erreicht.

Beim Vergleich mit dem konventionellen Evakuieren fanden SEIDEMANN et al. (1976) sowie TÄNDLER u. HEINZ (1971) keine Verlängerung der Haltbarkeit durch Einsatz von Restluftdrücken unter 50 mbar. Die "Hochvakuum-Verpackung" und die damit verbundene aufwendige apparative Einrichtung bietet um so weniger Vorteile, als WIESEL (1980) feststellen konnte, daß innerhalb von 2 bis 3 Tagen der Innendruck hochevakuierter Packungen sich dem normal evakuierter Proben angleicht, weil Lufteinschlüsse im Fleisch und die Gasdurchlässigkeit auch hochdichter Folien den Packungsinnendruck ansteigen lassen. Im Gegensatz zu diesem Befund ermittelten BOHNSACK u. HÖPKE (1982) bei Schweinefleisch eine Verlängerung der Haltbarkeit um fast das Doppelte durch Anwendung der "Hochvakuum-Verpackung".

---

* 1 mbar ≙ 100 Pa

2.2.6 Folienmaterial

Neben der gerätetechnischen Ausstattung beeinflußt die Art der verwendeten Folie entscheidend das in einer Packung herrschende Vakuum und damit die Haltbarkeit des Fleisches (BREER et al. 1980, CANTONI u. BOLTHER 1973, CARPENTER et al. 1975, CAVETT 1968, EGAN u. SHAY 1982, EUSTACE 1981, GRIFFIN et al. 1982, KRAFT u. AYRES 1952, NEWTON u. RIGG 1979, PAGLIARO et al. 1972, ROTH u. CLARK 1972, TÄNDLER u. HEINZ 1970a, WIESEL 1980,1981).

Die meisten Autoren fanden eine direkte Abhängigkeit zwischen Sauerstoffsperrwirkung des Kunststoffes und der Lagerfähigkeit. Als Erklärung hierfür gilt, daß die Intensität der Sauerstoffdiffusion das Redoxpotential an der Fleischoberfläche und somit direkt das Wachstum der Mikroorganismen beeinflußt. Besonders die Verderbserreger aus der Familie der Pseudomonadaceae, in geringerem Maße die übrige gramnegative Fäulnisflora werden in ihrer Vermehrung durch den reduzierten Sauerstoffpartialdruck gehemmt (INGRAM 1962), wohingegen die erwünschte mikroaerophile Laktobazillenflora günstige Entwicklungsbedingungen findet (BREER et al. 1980, CAVETT 1968, NEWTON u. RIGG 1979).

Zur Herstellung von Folien dienen Kunststoffe in den unterschiedlichsten Zusammensetzungen, meist in Verbunden (Laminaten). Dadurch lassen sich die meisten Folien so kombinieren, daß ein Endprodukt mit ganz speziellen Sperreigenschaften für Gase und Wasserdampf entsteht. Die am häufigsten eingesetzten Kunststoffe sind Polyethylen (PE), Polyamid (PA), Polypropylen (PP), Polyethylenglykolterephtalat (PETP = Polyester). Je nach Verbund können Sauerstoffdurchlässigkeitswerte im Bereich von etwa 5 bis 40 $cm^3/m^2 \cdot 24h \cdot bar$ bei 20 °C erzielt werden. Von guter Sperrwirkung spricht man, wenn Werte unter 100 cm^3 vorliegen (EUSTACE 1981).

2.2.7 Lagerungstemperatur

Wachstum und Vermehrung von Mikroorganismen können innerhalb eines Bereiches von -15 °C bis annähernd +80 °C stattfinden. Als Verderbserreger auf oder in kühlgelagerten Lebensmitteln spielen aber nur solche Keime eine Rolle, die sich auch bei den üblichen Aufbewahrungstemperaturen von ±0 °C bis etwa +7 °C vermehren.

Tab. 2 zeigt die minimalen Wachstumstemperaturen einiger Lebensmittel-Mikroorganismen, die bei vakuumverpacktem Fleisch den hauptsächlichen Floraanteil ausmachen.

Art oder Gattung	minimale Temp. in °C	Quelle
Pseudomonas	±0	SCHÖNBERG u. KÖNEKAMP (1962)
Enterobakteriazeen -Trib. Klebsielleae	+5	HECHELMANN et al. (1974)
Brochothrix thermosphacta	+2	NEWTON u. GILL (1978)
Lactobacillus*	+1	ALLEN u. FOSTER (1960)

Tabelle 2: Minimale Wachstumseigenschaften einiger Lebensmittel-Mikroorganismen

* einige Stämme

Auch bei Kühltemperaturen ist mit einer Vermehrung der Flora von vakuumverpacktem Frischfleisch nur dann zu rechnen, wenn die übrigen Bedingungen, wie z.B. Wasserstoffionenkonzentration und Redoxpotential, das Wachstum

der jeweiligen Bakterienspezies begünstigen. Insbesondere für Laktobazillen schaffen die Milieuverhältnisse in einer Vakuumpackung mit ihrer Kombination aus niedrigem pH-Wert, Mikro- bis Anaerobiose und Temperaturen um ±0 °C ideale Voraussetzungen (HEINZ 1974). Es wird daher verständlich, daß diese Keimgruppe bereits nach etwa 1 bis 2 Wochen Lagerungsdauer über die übrige Flora dominiert (KITCHELL u. SHAW 1975, TÄNDLER u. HEINZ 1970b). Allerdings vermehren sich auch einige Begleitkeime, doch bleiben ihre Wachstumsraten verzögert (NEWTON u. GILL 1981).

In der zugänglichen Literatur wird als günstigste Lagerungstemperatur für Frischfleischvakuumpackungen der Bereich in Nähe des Gefrierpunktes (-1 °C bis +1 °C) empfohlen (TÄNDLER u. HEINZ 1970b). Nur bei ununterbrochener Einhaltung dieser Temperaturen läßt sich eine optimale Qualitätserhaltung über eine mehrwöchige Lagerungsdauer hinweg gewährleisten (HESS u. MARTHALER 1962, TÄNDLER u. HEINZ 1971).

Einen relativ geringen Einfluß auf die Floraentwicklung in der Vakuumpackung nimmt die Vorkühlung des Fleisches. Mit +1 °C, 7,2 °C oder 37 °C ("hot-boning") Kerntemperatur verpacktes Fleisch wies keine Unterschiede im Wachstumsverhalten der Begleitkeime auf, so daß sich nach wenigen Tagen Lagerung in allen Beuteln eine qualitativ und quantitativ weitgehend übereinstimmende Flora ausgebildet hatte (BEEBE et al. 1976, BERRY u. KOTULA 1982). Differierten dagegen die Aufbewahrungstemperaturen (±0 und +5,5 °C), dann traten erhebliche Verschiebungen der Florazusammensetzung auf, die sich bei höheren Temperaturen sogar noch verstärkten (BEEBE et al. 1976).

Insgesamt stellt die Lagertemperatur unter allen Einflußgrößen denjenigen Faktor dar, der sich am ehesten kontrollieren und variieren läßt. Wegen der Temperaturabhängigkeit aller biologischen Prozesse bietet sich die allgemein genutzte Möglichkeit, über eine ausreichende Kühlung die Zusammensetzung und das Wachstumsverhalten der Keimflora zu steuern und auf diese Weise auch bei vakuumverpacktem Frischfleisch die Lagerfähigkeit zu verbessern.

2.2.8 Lagerdauer

In der Literatur finden sich recht unterschiedliche Angaben über die mögliche Lagerdauer von vakuumverpacktem Frischfleisch, wobei Angaben zur maximalen Haltbarkeitsfrist unter optimalen Verhältnissen nur sehr spärlich sind (HEINZ 1974, LEISTNER 1974, SUTHERLAND 1975a). Die bei verschiedenen Randbedingungen (Temperatur, Packstoff) und bei unterschiedlicher Ausgangskeimbelastung gewonnenen Ergebnisse sind in Tab. 3 zusammengestellt. Dabei ist einschränkend zu bemerken, daß "Haltbarkeit" nicht von allen Autoren einheitlich interpretiert wird.

Unter der Voraussetzung, daß jeweils maximal erreichbares Vakuum angelegt wurde, hängt der Zeitpunkt des Verderbniseintritts von der Kombination - Temperatur/O_2-Durchlässigkeit - ab und kann je nach Milieubedingungen zwischen 2 und mehr als 15 Wochen schwanken. Für die in der Praxis üblichen Bedingungen darf bei $\pm$0 °C bis +2 °C mit einer Haltbarkeit ohne Genußwertminderung bis zu 3 Wochen gerechnet werden (TÄNDLER u. HEINZ 1970b). Länger als 5 Wochen gereiftes Fleisch weist nach den Ergebnissen der genannten Autoren bereits einen unangenehmen, säuerlichen Geschmack auf.

2.2.9 Gasspannung

Keime, die mit dem Verderb von vakuumverpacktem Frischfleisch in ursächlichem Zusammenhang stehen, können unterschiedliche Anforderungen an den Sauerstoffpartialdruck stellen. So sind die obligat aeroben Pseudomonaden auf O_2 angewiesen, obgleich sie im anaeroben Milieu mit reduzierter Stoffwechselrate zu überleben vermögen (SUTHERLAND et al. 1975b). Andererseits wachsen Enterobakteriazeen, Brochothrix thermosphacta und Laktobazillen als fakultativ anaerobe bzw. mikroaerophile Keime auch bei stark erniedrigter Sauerstoffspannung bzw. ohne Sauerstoff. Daher stellt die Sauerstoffspannung in der Packung einen wichtigen Selektionsfaktor für das Wachstum von Mikroorganismen dar (SINELL 1980). Sie wird üblicherweise als Redoxpotential, ausgedrückt als der "Eh-Wert", angegeben.

Quelle	Temperatur (in °C)	Haltbarkeit (in Wochen)	O_2-Permeabilität ($cm^3/cm^2 \cdot 24h \cdot bar$ bei 20 °C)
D'ALESSANDRIA u. PAGLIARO (1975)	±0 bis +1	10	7-150
BEEBE et al. (1976)	+5,5	bis 3	o.A.*
	±0	bis 4	o.A.
HEINZ (1974)	-1 bis ±0	bis 10	o.A.
KENNEDY et al. (1982)	±0 bis +1	bis 6	30-50
NEWTON u. RIGG (1979)	±0	15	0
	±0	bis 15	190
	±0	11 bis 15	290
	±0	6 bis 9	532
	±0	4 bis 6	818
	±0	2 bis 4	920
SUTHERLAND et al. (1975a)	±0 bis +2	9	30
TÄNDLER u. HEINZ (1970b)	±0	4 bis 5	o.A.
	+2	3 bis 4	o.A.
	+4	2 bis 3	o.A.
	+6	bis 2	o.A.

Tabelle 3: Maximale Lagerzeiten von Rindfleisch bei unterschiedlichen Temperaturen und O_2-Durchlässigkeitswerten

* ohne Angabe

Obwohl Evakuieren den Luftsauerstoff weitgehend entfernt, verbleibt noch ein geringer Teil an Restsauerstoff in der Packung. Dieser wird durch muskeleigene Enzyme (CHEAH u. CHEAH 1972) und die vorhandene Flora (INGRAM 1962) veratmet. Hierbei entstehendes CO_2 (CERNY 1985, ERICHSEN u. MOLIN 1981, GARDNER u. CARSON 1967) begünstigt die Anreicherung CO_2-resistenter Laktobazillen (LUBIENIECKI v. SCHELHORN 1975) und hemmt die übrige gramnegative Verderbsflora (BALTZER 1969, CAVETT 1968, JAYE et al. 1962, JOHNSON 1974, KRAFT u. AYRES 1952, TAYLOR u. SHAW 1977, TÄNDLER u. HEINZ 1970a,1970b, SHAW et al. 1980). Der Selektionseffekt basiert auf der Störung enzymatischer Reaktionen in der Zellmembran, was offensichtlich die Substrataufnahme beeinträchtigt (ENFORS u. MOLIN 1978, KING u. NAGEL 1975, SINELL 1981, TAN u. GILL 1982). Unter diesem Aspekt empfehlen HEISS u. EICHNER (1969) eine "CO_2-Imprägnierung" des Fleisches unmittelbar vor dem Abpacken, um besonders die typischen Fleischverderber während der nachfolgenden Lagerung einzudämmen.

Die spezifische Wirkung von CO_2 auf das Wachstum der gramnegativen Verderbsflora führte zum Einsatz von "modifizierten Atmosphären". Hierbei wird nach dem Evakuieren ein Gasgemisch aus CO_2 und inertem N_2 in unterschiedlichen Mengenanteilen in die Packungen eingeleitet. Ein derartiges, als "Rückbegasung" bezeichnetes Verfahren zögert zwar den mikrobiellen Verderb des Fleisches hinaus, doch treten Farbveränderungen an der Muskeloberfläche deutlicher in Erscheinung als bei ausschließlicher Vakuumverpackung (TÄNDLER u. HEINZ 1971).

Die Literaturangaben zu diesem Problem erscheinen indessen recht widersprüchlich. So sollen nach BÖHME (1978) selbst CO_2-Konzentrationen bis 40 Vol. % keine unerwünschte Metmyoglobinbildung (MetMb) hervorrufen. Hingegen halten CLARK u. LENTZ (1972) 20 Vol. % CO_2 für die äußerste Grenze, unterhalb derer keine Farbprobleme auftreten.

Bei HEISS u. EICHNER (1969) sind die Vorgänge, welche zu Änderungen der Fleischfarbe durch Sauerstoffeinwirkung führen, beschrieben. In einer frischen Schnittfläche liegt purpurfarbenes Myoglobin (Mb) vor, das bei

Einwirkung von Luftsauerstoff oxigeniert wird und dann eine leuchtend-ziegelrote Farbe von Oximyoglobin (OMb) aufweist. Wird dieses Fleisch verpackt und evakuiert, so tritt mit sinkendem O_2-Partialdruck (pO_2) eine Desoxigenierung zu Myoglobin ein. Restsauerstoff bzw. während der Lagerung in die Packung diffundierender Sauerstoff führen jedoch stets zur Bildung von geringen Anteilen braunen, mißfarbenen Metmyoglobins (MetMb). Dieses wird jedoch infolge der Reduktionskapazität des Fleisches ständig zu Mb reduziert. Die an der Reaktion beteiligten Co-Enzyme stehen nach PRICE u. SCHWEIGERT (1971) indes nur solange zur Verfügung, wie oxidable Substanzen, insbesondere Glucose, verfügbar sind.

2.2.10 Verderb, Definition und Abgrenzung

Der Begriff der "Haltbarkeit" unterliegt, soweit er sich auf Lebensmittel bezieht, sehr stark der subjektiven Einschätzung durch den Verbraucher. Haltbarkeit wird nach dem deutschen Lebensmittelrecht als die Frist verstanden, innerhalb derer ein "Lebensmittel unter angemessenen Aufbewahrungsbedingungen seine spezifischen Eigenschaften behält" (Art. 1, § 7 Abs. 1 der Verordnung zur Neuordnung lebensmittelrechtlicher Kennzeichnungsvorschriften, vom 22.12.1981, BGBl. I, Seite 1625). Mit dem Verlust der "Spezifischen Eigenschaften" eines Lebensmittels setzt der immer weiter fortschreitende Prozeß des Verderbs ein, der mit einer ebenfalls zunehmenden Beeinträchtigung der Verzehrseignung einhergeht. § 17 Abs. 1, Nr. 1 des Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetzes (LMBG) erfaßt mit seiner Formulierung "zum Verzehr nicht geeignet" Lebensmittel, deren Genußtauglichkeit aufgrund stofflicher Veränderungen nicht oder nicht mehr gegeben ist (ZIPFEL 1984). Dazu gehören insbesondere Veränderungen der äußeren und inneren Beschaffenheit, des Aussehens, des Geruchs und Geschmacks, die sich so nachteilig auswirken, daß nach allgemeiner Verkehrsauffassung die Verzehrseignung verloren gegangen ist. Eine völlige Ungenießbarkeit ist für die Beurteilung "zum Verzehr nicht geeignet" nach HOLTHÖFER et al. (1961) und ZIPFEL (1984) nicht erforderlich. SINELL (1980) spricht von "Verderb", wenn stoffliche Umsetzungen oder sonstige Verände-

rungen in einem Lebensmittel eintreten, die seinen Gebrauchswert einschränken. Somit stellt "Verderb" einen dynamischen Vorgang mit fliessenden Übergängen dar, der sein Endstadium im "Verdorbensein" des Lebensmittels findet.

Zum Verderb von Lebensmitteln führt die Tätigkeit von Mikroorganismen, wenn deren Stoffwechselprodukte bzw. Zellmasse zu sinnfälligen, unerwünschten Veränderungen führen. Die Abgrenzung der Zustände "frisch/beginnender Verderb/verdorben", bietet in vielen Fällen Schwierigkeiten. So müssen zum einen geringe Abweichungen auch beim Normalzustand toleriert werden, zum anderen sind Übereinkünfte, regionale Anschauungen, wirtschaftliche Gegebenheiten und subjektives Empfinden für die Beurteilung maßgebend (SINELL 1980). Als Beispiel mag der "haut goût" bei Wildfleisch gelten, der bei objektiver Betrachtung fortgeschrittenen Verderb darstellt, vom kundigen Verbraucher in früheren Zeiten jedoch toleriert bzw. gewünscht wurde. Die Schwierigkeit einer präzisen Charakterisierung und Einstufung des Frischegrades ist gerade bei solchen Lebensmitteln gegeben, die wie Skelettmuskulatur eine Reifungsphase benötigen, ehe sie als "Fleisch" ihre Verzehrseigenschaften erlangen. Der Übergang von der Reifung zum Verderb ist fließend und deshalb die Grenze der Verkehrsfähigkeit nicht immer exakt zu bestimmen. Vielfach ist dies nur mit Hilfe einer unveränderten Kontrollprobe in Verbindung mit einem empfindlichen sensorischen Testverfahren möglich.

2.2.11 Lactat

Die Schwierigkeit, den Grad mikrobiellen Verderbs bei Lebensmittel zu erfassen und womöglich quantitativ zu beschreiben, hat schon frühzeitig zu der Suche nach verderbsspezifischen Parametern geführt, welche die schwierige sensorische Beurteilung ersetzen oder zumindest ergänzen. Der Nachweis solcher chemischen Verderbs-Indikatoren ist für die Praxis der Lebensmitteluntersuchung von besonderem Wert, wenn sie substantielle Veränderungen bereits anzeigen, bevor der Verderb sinnfällig wird (EICHNER 1973).

Endprodukte des mikrobiellen Stoffwechsels bieten als Indikatoren den Vorteil, daß sie zumeist in Lebensmitteln selbst verbleiben und sogar akkumulieren (GILKA et al. 1980). FIELDS et al. (1968) fordern für die Eignung eines mikrobiellen Stoffwechselproduktes als Merkmal des Frischezustandes folgende Eigenschaften:

- es muß von der dominierenden Flora gebildet werden,
- es darf in frischen Lebensmitteln nicht oder nur in geringer Menge vorhanden sein,
- seine Konzentration muß mit zunehmendem Verderb ansteigen.

Diese Forderungen werden von dem D-Isomer der Milchsäure, bei vakuumverpackten, hitzebehandelten Fleischerzeugnissen erfüllt (LUKE 1978, SCHNEIDER 1982). Für vakuumverpacktes Frischfleisch liegen mit dem D(-)-Lactat* hingegen kaum Erfahrungen vor (WIEGNER u. HILDEBRANDT 1982). Die D-Milchsäure wird ausschließlich von der glykolytischen Keimflora gebildet und akkumuliert als eines der Endprodukte des mikrobiellen Kohlenhydratstoffwechsels (SCHNEIDER 1982). Auch Laktobazillen bilden stets Milchsäure, dabei sind die Stereospezifität der Lactat-Dehydrogenase bzw. das Vorhandensein einer Lactat-Racemase dafür verantwortlich, ob D-, L(+)- oder DL-Lactat gebildet wird.

L-Lactat wird im Gegensatz zum D-Lactat nicht nur von Mikroorganismen gebildet, sondern es entsteht auch im Verlauf der postmortalen Glykolyse durch die Wirkung muskeleigener Enzyme. Aufgrund dieser endogenen L-Lactat-Produktion besitzt dessen alleinige Bestimmung oder die Bestimmung der Gesamtmilchsäure geringe Aussagekraft für den Grad der mikrobiellen Belastung (LUKE 1978, SCHNEIDER 1982, SUTHERLAND et al. 1976). Im Gegensatz hierzu bietet D-Lactat einen wesentlich besseren Parameter. WIEGNER u. HILDEBRANDT (1982) fanden bei ihren Untersuchungen mittels der "Absaugmethode" bei vakuumverpacktem Fleisch, daß mit zunehmender Lagerdauer die D-Lactatkonzentration im Fleischsaft und im Fleisch kontinuierlich ansteigt. Deshalb schätzten sie D-Lactat als ein Zusatzkriterium ein, das sich zur Präzisierung des mikrobiologischen Befundes eignet.

---

* in der Folge als D-Lactat bezeichnet

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 M a t e r i a l

3.1.1 Probenauswahl

Sowohl für den Vorversuch wie auch für die Hauptversuche (I,II,III,IV) wurde Fleisch süddeutscher Schlachtbullen verwendet. Vier Tage nach der Schlachtung erfolgte die Zerlegung in einem fleischverarbeitenden Betrieb, an dessen Zerlegeband auch die Probenauswahl vorgenommen wurde. Als Ausgangsmaterial dienten Oberschalen, die durch Entfernen der Mm. gracilis, sartorius und pectineus so zugeschnitten wurden, daß jeweils ein einzelner großer Skelettmuskel (M. adductor) zur Verfügung stand.

Um das Verhalten von DFD-Fleisch (dark-firm-dry) vergleichend zu normal gereiftem Fleisch zu untersuchen, wurde für eine Versuchsreihe (II) Fleisch mit DFD-Konditionen (pH_2 >6,0) verwendet. Hierbei diente der pH-Wert im M. adductor als Kriterium für die Probenauswahl. Im einzelnen wurden folgende pH-Werte gemessen:

Versuchsreihe I	: 5,6
Versuchsreihe II	: 6,2
Versuchsreihe III	: 5,6
Versuchsreihe IV	: 5,8

3.1.2 Hygienische Bedingungen

In dem Versuchsplan wurde auch der Einfluß unterschiedlicher hygienischer Bedingungen bei der Bearbeitung und der Verpackung auf die Haltbarkeit von vakuumverpacktem Frischfleisch berücksichtigt. Für die Versuchsreihen

I,II + III wurde im Zerlegebetrieb selbst unter Praxisbedingungen (Raumtemperatur 17 °C, Schneidbretter und Gerät ca. vier Stunden in Betrieb) gearbeitet. Bei Vers. IV erfolgte die Bearbeitung des Fleisches im Labor unter Beachtung peinlichster Sauberkeit (gereinigtes und desinfiziertes Gerät, gewaschene und desinfizierte Hände). Im Gegensatz zu den Verhältnissen in der Praxis sollte dieser Versuch besonders günstige Betriebsbedingungen simulieren. Unter Berücksichtigung der beiden Einflußfaktoren - Glykolysetyp und Probengewinnung - ergab sich für die 4 Versuchsreihen folgende Merkmalsstruktur:

Versuch	Glykolysetyp	Probengewinnung
I	Normal	Zerlegebetrieb
II	DFD	Zerlegebetrieb
III	Normal	Zerlegebetrieb
IV	Normal	Labor

3.1.3 Verpackung

Mit gewerbeüblichen Aufschneidemaschinen wurden von den Fleischstücken jeder Versuchsreihe quer zum Faserverlauf ca. 1 cm dicke und etwa handflächengroße Scheiben von ca. 150 g Gewicht geschnitten und für die Vakuumlagerung verpackt. Hierzu dienten Polyamid/Polyethylen (PA/PE 20/65) Siegelrandbeutel der Größe 200 x 300 mm (Typ "Vakuking", Hersteller: NASTOLA, Finnland).
Die Herstellerangaben für die Durchlässigkeit von Wasserdampf und Sauerstoff lauten:

Wasserdampf 1,2 g/m^2 x 24h bei 85 % rel. Feuchte
Sauerstoff 9,0 cm^3/m^2 x 24h bei 75 % rel. Feuchte

Mit maximal erreichbarem Vakuum von etwa 30 mbar wurden die Packungen in einer Einkammeranlage (Typ III/D "Vakuboy", Hersteller: KOMET-Maschinenfabrik, E. DETMOLD Stuttgart) evakuiert und verschweißt. Vor der Einlagerung wurden die Siegelnähte auf sichtbare Defekte kontrolliert.

3.1.4 Probenumfang und Lagerungsbedingungen

Der Probenumfang betrug bei Vers. I,II und III jeweils 28 Packungen, bei Vers. IV 34 Packungen. Eine Hälfte des Probenmaterials jeder Versuchsreihe wurde bei -18 °C eingefroren und gelagert. Diese Packungen enthielten je eine Fleischscheibe und waren ausschließlich als negative Kontrolle bei den sensorischen Untersuchungen vorgesehen (siehe Abb. 1). Für die eigentlichen Lagerungsversuche wurden die ausgewählten Proben in einen Kühlraum mit der gewerbeüblichen Reifungstemperatur von +2 ± 1 °C verbracht. Hierbei wurden die Beutel in hängendem Zustand so aufbewahrt, daß sich der aus dem Fleisch austretende Fleischsaft überwiegend im unteren Teil der Packung ansammeln konnte und nur ein Teil der Fleischscheiben ständig mit dem Saftdepot in Kontakt war. Dieser Bezirk wurde in die Untersuchungen der Fleischoberfläche nicht mit einbezogen.
Zum jeweiligen Untersuchungszeitpunkt wurden nach Eröffnen des Beutels an einer Scheibe die bakteriologischen, biochemischen und sensorischen Untersuchungen durchgeführt, während sich bei dem anderen Stück eine Überprüfung der aeroben Lagerungsfähigkeit anschloß.
Die bakteriologischen und biochemischen Untersuchungen wurden an Fleisch und Fleischsaft getrennt vorgenommen. Dieser doppelte Ansatz sollte klären, ob die unterschiedliche Milieusituation von Fleischoberfläche und Fleischsaft einen Einfluß auf Art und Zahl der aerob kultivierbaren Mikroorganismen und auch auf die Konzentration des gebildeten D-Lactats ausübt.

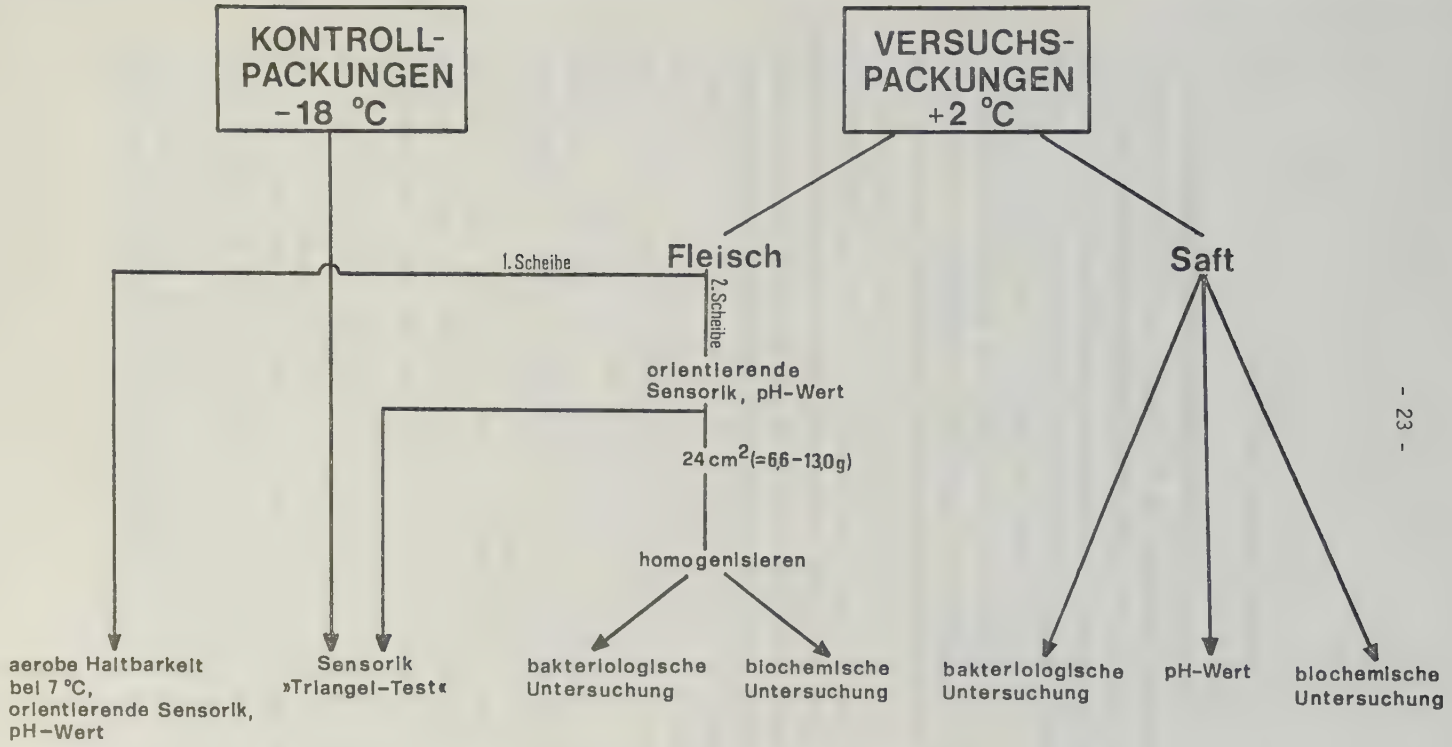


Abb. 1: Schematische Darstellung des Untersuchungsganges

3.1.5 Prüfung der aeroben Haltbarkeit

Zur Prüfung der aeroben Lagerungsfähigkeit wurde die Fleischscheibe in eine sterile Petrischale (Ø 15 cm) gelegt und mit einer handelsüblichen "Frischhalte"-Kunststoffolie (Fabr.: MELITTA, Best.-Nr. 1-3000-05) abgedeckt. Die Durchlässigkeitswerte dieser Folie betrugen laut Herstellerangabe:

Wasserdampf	4	g/m^2 x 24h bei 100 % Feuchte
Sauerstoff	9500	cm^3/m^2 x 24h x bar
Kohlendioxid	38000	cm^3/m^2 x 24h x bar

Bei 7 °C, was der oberen Temperaturgrenze für die Lagerung von frischem Fleisch gemäß den Hygiene-Verordnungen einzelner Bundesländer entspricht, wurden die Fleischscheiben im Kühlschrank aufbewahrt und täglich auf Farb- und Geruchsabweichungen sowie Änderungen im Oberflächen-pH-Wert überprüft.

3.2 Methodik

3.2.1 Bakteriologische Untersuchungen

3.2.1.1 Probennahme und Probenaufbereitung

Fleischsaft: Aus dem geöffneten Folienbeutel wurde mit einer sterilen Pipette der ausgetretene Fleischsaft weitestgehend abgesaugt. Mit 1 ml Ausgangsmaterial und je 9 ml 0,1 %igem Peptonwasser wurde in Reagenzgläsern eine Verdünnungsreihe in fallenden Zehnerpotenzen hergestellt, wobei intensives Durchmischen mit dem Whirl-Mix und mehrfaches Aufziehen und Auslaufenlassen der 1 ml-Pipette eine ausreichende Homogenisierung gewährleisteten.

Muskelfleisch: Nach Entnahme des Fleischsaftes wurde das obere Folienblatt des Beutels entfernt und mit einem sterilen, angeschliffenen Locheisen (Ø 3,9 cm) ein kreisrundes Stück aus einer Fleischscheibe ausgestanzt. Bei dieser Versuchsanordnung wurden Ober- und Unterseite der Probe erfaßt, so daß insgesamt eine Fläche von 24 cm^2 zur Untersuchung gelangte. In gleicher Weise verfuhren BEM et al. (1976) bei ihrer Untersuchung von DFD-Fleisch. Die Gewichte der ausgestanzten Proben schwankten je nach Dicke der Fleischscheiben zwischen 6,6 und 13,0 g. Die Fleischstücke wurden in sterile Meßzylinder verbracht und diese Gefäße mit 0,1 %igem Peptonwasser, dem 0,075 % Agarpulver (OXOID) zugesetzt worden war, auf 100 ml aufgefüllt. Diese Art der Verdünnung gestattet es, bei Berücksichtigung der entsprechenden Verdünnungsfaktoren die Analysenresultate sowohl auf die Masse (pro g) als auch auf die Oberfläche (pro cm^2) zu beziehen.
Der Inhalt der Meßzylinder wurde in sterile Polyethylenbeutel überführt und im Colworth "Stomacher 400" 60 sec homogenisiert. Das Homogenisat wurde anschließend über sterile Gaze filtriert, um damit feste Bestandteile, die den weiteren Verdünnungsvorgang erschweren, weitgehend zurückzuhalten. Mit der erhaltenen Flüssigkeit wurde - wie oben beschrieben - eine dezimale Verdünnungsreihe angelegt.

3.2.1.2 Kulturverfahren

Zur Keimzahlbestimmung und Differenzierung der verschiedenen Keimgruppen wurden 11 verschiedene Nährmedien eingesetzt.
In Tab. 4 sind die Abkürzungen und spezifischen Inkubationsbedingungen aufgeführt. Tab. 5 enthält nähere Angaben über die Zusammensetzung der einzelnen Medien.

Nährmedium	Mikroorganismen	Bebrütung Dauer (Tage)	Temperatur (°C)
ISO	mesophile Gesamtflora	2	30
	psychrotrophe Gesamtfl.	7	4
La	Laktobazillen	3	30 (anaerob)
LS	Laktobazillen	3	30 (anaerob)
GSP	Pseudomonaden	3	22
		7	4
CFC*	Pseudomonaden	3	22
		7	4
VL	Coliforme u. Colibakterien	1	30 (anaerob)
VG	Enterobakteriazeen	1	30 (anaerob)
STAA	Brochothrix thermosphacta	2	22
Kranep	Mikrokokken u. Staphylokokken	2	37
En	Enterokokken	2	37
Ro	Hefen u. Schimmelpilze	7	22

Tabelle 4: Abkürzung und spezielle Inkubationsbedingungen der verwendeten Nährmedien

* der CFC-Agar wurde erst ab der 3. Woche in den Versuchsreihen I,II und III eingesetzt.

ISO-Agar	Pepton-Fleischextrakt-Hefeextrakt-Glucose-Agar nach REUTER (1968)
La-Agar	Laktobazillen-Agar nach REUTER (1970a)
LS-Agar	Laktobazillen-Agar mit 0,04 % Sorbinsäure, pH-Wert 5,0 (REUTER 1970a)
GSP-Agar	Glutamat-Stärke-Penicillin-Agar nach KIELWEIN (1969, 1971a,b) Fertignährboden der Fa. MERCK
CFC-Agar	Heart-Infusion-Agar (DIFCO), mit 50 µg Cephaloridin, 10 µg Fucidin und 10 µg Cetrimid/1000 ml Medium, nach MEAD u. ADAMS (1977)
VL-Agar	Kristallviolett-Galle-Lactose-Agar, Fertignährboden der Fa. OXOID (1979) (Violet-Red-Bile-Lactose-Agar)
VG-Agar	Kristallviolett-Galle-Glucose-Agar, Fertignährboden der Fa. OXOID (1979) (Violet-Red-Bile-Glucose-Agar)
STAA-Agar	Streptomycin-Thalliumacetat-Actidione-Agar nach GARDNER (1966)
En-Agar	Citrat-Azid-Tween-Carbonat-Medium nach REUTER (1968)
Kranep-Agar	Kaliumrhodanid-Actidione-Natriumazid-Eigelb-Pyruvat-Agar nach SINELL u. BAUMGART (1967)
Ro-Agar	Bengalrot-Chloramphenicol-Agar Fertignährboden der Fa. OXOID (BAGGERMANN 1979)

Tabelle 5: Zusammensetzung der verwendeten Nährmedien

Die VL- und VG-Nährböden wurden mit Hilfe des BBL-Gaspak-Systems (BECTON-DICKINSON) anaerob bebrütet (ELLNER et al. 1973, MARTIN 1971, ROSENBLATH et al. 1973, SCHAAL 1974, SPAULDING 1973, STALONS et al. 1974). Nach BREER u. RUOSCH (1978) und RUOSCH (1977) bleibt dann das Wachstum obligat aerober Nicht-Enterobakteriazeen aus. Weiterhin läßt sich mit einer Bebrütungstemperatur von 30 °C erreichen, daß einige psychrotolerante Enterobakteriazeenstämme der Gattungen Klebsiella und Enterobacter durch die Kombination von selektiven Zusätzen in den Medien weniger gehemmt werden.

Nach GARDNER (1966) wachsen auf dem STAA-Agar neben Brochothrix thermosphacta Pseudomonaden. Um diese Keime nicht fälschlicherweise mit zu erfassen, wurden die Platten nach dem Auswerten mit einer frisch bereiteten 1 %igen wässrigen Lösung von N,N,N',N' - Tetramethyl - 1,4 - phenylendiammoniumdihydrochlorid (MERCK, Best.-Nr. 821102) überflutet. Die oxidase-positiven Pseudomonadenkolonien markieren sich nach ca. 15 sec durch blaue Farbe.

Die Beimpfung der im Brutschrank vorgetrockneten Platten erfolgte nach dem "Drop-plating-Verfahren" (REUTER 1968,1970a, SINELL et al. 1965, UNTERMANN 1970), wobei jeweils 0,05 ml Flüssigkeit aus 6 aufeinanderfolgenden Verdünnungsstufen auf die entsprechend gekennzeichneten Sektoren aufgetragen wurden (REUTER 1970a). Nach dem Antrocknen des mit der Pipettenspitze kreisförmig ausgezogenen Tropfens wurden die Platten mit der Schichtseite nach oben unter den in Tab. 4 angegebenen Bedingungen bebrütet.

3.2.1.3 Auswertung und Berechnung der Keimzahl

Zur Auswertung gelangten jeweils die bewachsenen Flächen zweier aufeinanderfolgender Verdünnungsstufen, auf denen zwischen 1 und 100 gut zählbare, klar voneinander abgegrenzte Kolonien gewachsen waren.

Anhand dieser Werte wurde nach FARMILOE et al. (1954) das mit dem Verdünnungsfaktor gewichtete, arithmetische Mittel der Anzahl koloniebildender Einheiten (als "Keimzahl") berechnet.
Die Berechnung erfolgte zunächst nach:

$$N = \frac{(x^{-n} + y^{-(n+1)}) \times 10}{11}$$

Hierbei ist N die Gesamtzahl der Keime pro ml Fleischsaft bzw. pro cm^2 Fleischoberfläche oder pro g Fleisch

x^{-n} und $y^{-(n+1)}$ = die ausgezählten Kolonien der beiden aufeinanderfolgenden Verdünnungsstufen n und (n+1)

Dieses Ergebnis mußte in zweierlei Hinsicht korrigiert werden.
Zum einen mußten die ermittelten Keimzahlen mit 2 multipliziert werden, da anstelle des 0,1 ml beim Spatelverfahren, bei dem hier angewendeten Tropfverfahren nur 0,05 ml aufgetragen wurden. Zum anderen war bei der Berechnung der Keimzahlen pro cm^2 bzw. pro g der durch die unterschiedlichen Probengewichte bedingte Verdünnungsfaktor zu berücksichtigen.
Die ermittelten Keimzahlen wurden als dekadische Logarithmen koloniebildender Einheiten (KBE) angegeben.

3.2.2 Bestimmung des D-Lactats

Lactat gilt als ein aussagekräftiges Merkmal der mikrobiellen Stoffwechselaktivität (LUKE 1978, SCHNEIDER 1982). Weil jedoch die L(+)-Form der Milchsäure nicht nur aus mikrobieller Tätigkeit sondern auch aus der postmortalen Glykolyse herrührt, ist eine Bestimmung dieses Milchsäureisomeres von geringer Aussagekraft für den hygienischen Status des Untersuchungsmaterials. Wesentlich mehr Information bietet der Nachweis

von D(-)-Milchsäure. Sie wird ausschließlich von der glykolytischen Keimflora gebildet und akkumuliert als Endprodukt des mikrobiellen Kohlenhydratstoffwechsels.
Analog zur bakteriologischen Untersuchung wurde Fleisch und Fleischsaft getrennt untersucht.

3.2.2.1 Prinzip

D-Milchsäure (D-Lactat) wird durch das Enzym D-Lactat-Dehydrogenase (D-LDH) in Gegenwart von Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NAD) zu Pyruvat oxidiert:

$$\text{Lactat} + \text{NAD}^+ \xrightleftharpoons{\text{D-LDH}} \text{Pyruvat} + \text{NADH} + \text{H}^+$$

Da das Gleichgewicht dieser Reaktion auf der Seite des Lactats und des NAD liegt, muß für die enzymatische Analyse das Pyruvat mit Hilfe einer nachgeschalteten Reaktion abgefangen und so das Gleichgewicht auf die Seite der Brenztraubensäure (Pyruvat) verschoben werden:

$$\text{Pyruvat} + \text{L-Glutamat} \xrightleftharpoons{\text{GPT}} \text{L-Alanin} + \alpha\text{-Keto-glutarat}$$

Die während der Reaktion gebildete NADH-Menge ist der D-Milchsäure äquivalent und kann als Meßgröße dienen, wobei die Zunahme der Absorption von durchfallendem Licht der Wellenlänge 340 nm spektralphotometrisch bestimmt wird (BERGEMEYER 1974, BOEHRINGER, Mannheim 1980).

3.2.2.2 Probenaufbereitung

Fleischsaft: 1 ml Fleischsaft wurde im 50 ml Meßkolben mit 25 ml Aqua bidest. versetzt und im Wasserbad bei 80 °C unter Schütteln erhitzt und extrahiert. Die angegebene Temperatur reichte aus, um mikrobielle Stoff-

wechselaktivitäten im Untersuchungsmaterial während der Aufbereitung weitestgehend auszuschalten. Nach der Erhitzung erfolgte eine Schnellabkühlung im Eisbad auf Raumtemperatur und das Enteiweißen durch Zusatz von je 2 ml Carrez-I und II Lösung sowie 4 ml 0,1n NaOH. Nach dem Auffüllen des Meßkolbens mit Aqua bidest. auf 50 ml wurde die Lösung abschließend durch Selecta-Faltenfilter Nr. 593 1/2 filtriert und in dieser Form zum Test eingesetzt.

Fleisch: 10 ml des zur bakteriologischen Untersuchung hergestellten Fleischhomogenisats wurden in einen 100 ml Meßkolben verbracht und mit 50 ml Aqua bidest. versetzt. Nach einer der Behandlung des Fleischsaftes analogen Erhitzung, Extraktion und Abkühlung wurden zur Enteiweissung je 5 ml Carrez-I und II Lösung und 10 ml 0,1n NaOH zugesetzt, auf 100 ml aufgefüllt und filtriert. Die klare Lösung wurde für den Test verwendet.

Die Messung erfolgte für beide Ansätze mit dem Spektralphotometer PM Q II der Firma ZEISS jeweils als Doppelbestimmung.

3.2.2.3 Reagenzien und Bestimmungsansatz

Es wurde die Testkombination der Firma BOEHRINGER Mannheim, "UV-Test zur Bestimmung von L-Milchsäure in Lebensmitteln", Best.-Nr. 139084 verwendet. Die in dieser Testkombination enthaltene L(+)-Lactat-Dehydrogenase wurde zur Bestimmung der D-Milchsäure durch die D-Lactat- Dehydrogenase ersetzt.
Somit kamen folgende Lösungen zum Einsatz (in Klammern die verwendeten Volumina):

Lösung 1 :	Glycylglycin-Puffer, L-Glutaminsäure	(1,0 ml)
Lösung 2 :	Nicotinamid-adenin-dinucleotid NAD	(0,2 ml)
Lösung 3 :	Glutamat-Pyruvat-Transaminase GPT	(0,02 ml)
Lösung 4 :	D-Lactat-Dehydrogenase D-LDH	(0,05 ml)
außerdem :	Probelösung 0,1 bzw. 1,0 ml* Aqua bidest. 0,9 bzw. 0,0 ml	

* s.u. 3.2.2.4

Die enzymatische Analyse wurde unter den nachstehenden Bedingungen durchgeführt:

Wellenlänge	:	340 nm
Einweg-Kunststoff-Küvetten	:	1 cm Schichtdicke
Temperatur	:	20 bis 22 °C
Testvolumen	:	2,27 ml
Messung	:	Doppelbestimmung gegen Luft

3.2.2.4 Bestimmung und Leerwert

Mit Ausnahme der D-LDH wurden die angegebenen Reagenzien mit Kolbenhubpipetten der EPPENDORF-Gerätebau, NETHELER & HINZ Hamburg, in der Reihenfolge 1) bis 3) in die Küvetten pipettiert und mit einem Enzymspatel durchmischt. Nach 5-minütiger Inkubation wurde die Extinktion (E_1) des Gemisches bestimmt. Dann wurde die Reaktion durch die Zugabe von 0,05 ml D-LDH gestartet. Nach erneutem Durchmischen und 30-minütiger Inkubation erfolgte die Messung des zweiten Extinktionswertes (E_2). Der Berechnung der D-Lactatkonzentration wurde der Differenzwert $\Delta E = E_2 - E_1$ zugrunde gelegt.
Gemäß der Arbeitsanleitung von BOEHRINGER (1980) soll die Menge an D-Lactat in der Küvette für die Messung bei 340 nm zwischen 2 und 20 µg betragen, weil in diesem Bereich das Meßoptimum der Methode liegt. Erreicht im 0,1 ml großen Probevolumen die Lactatmenge nicht die 2 µg Grenze, soll das Probevolumen bis auf 1,0 ml erhöht werden, wobei die Menge des zugesetzten Aqua bidest. zu reduzieren ist. Die Änderung des Probevolumens ist dann bei der Berechnung zu berücksichtigen.
Enzymatische Analysen mit 1,0 ml Probevolumen wurden zu Beginn der Untersuchungen durchgeführt, da nach den Erfahrungen der Vorversuche zu diesem Zeitpunkt die D-Lactatkonzentrationen sehr niedrig liegen.
Die Bestimmung des Leerwertes erfolgte wie o.a., nur wurde statt der Probelösung Aqua bidest. verwendet. Die Berechnung erfolgte dann nach:

$$E_{L2} - E_{L1} = \Delta E_L^*$$

---

* ΔE_L = Extinktionsdifferenz Leerwert

3.2.2.5 Berechnung der D-Lactatkonzentration nach dem LAMBERT-BEER'schen Gesetz

Absorptionsphotometrische Messungen zur Berechnung der Konzentration einer Substanz in verdünnten Lösungen basieren auf dem LAMBERT-BEER'schen Gesetz.
Danach gilt für die Berechnung der Milchsäurekonzentration (c) folgende Gleichung:

$$c = \frac{V \times MG}{\varepsilon \times v \times d \times 1000} \Delta E \quad (g/l)$$

Hierbei ist:

V	Testvolumen (ml)
v	Probevolumen (ml)
MG	Molekulargewicht D-Lactat
ε	Extinktionskoeffizient des NADH bei 340 nm = 6,3 ($l \times mmol^{-1} \times cm^{-1}$)
d	Schichtdicke der Küvette (cm)
ΔE	$E_2 - E_1$

Mit den für die Milchsäurebestimmung geltenden Werten ergibt sich folgende Gleichung:

$$c = \frac{2{,}27 \times 90{,}1}{6{,}3 \times 10^3 \times 0{,}1\ (1{,}0) \times 1} \times \Delta E \quad (g/l)$$

daraus folgt:

$c = 0{,}3246 \times \Delta E$ (g/l) für Probevolumen 0,1 ml
und
$c = 0{,}0325 \times \Delta E$ (g/l) für Probevolumen 1,0 ml

Um die bei der Probenaufbereitung vorgenommene Verdünnung zu berücksichtigen, muß die nach vorstehender Formel ermittelte Lactatkonzentration mit dem Verdünnungsfaktor F multipliziert werden:

$$F = \frac{\text{Probengewicht}}{\text{Verdünnungsflüssigkeit}}$$

bzw.

$$F = \frac{\text{Fleischsaftvolumen}}{\text{Verdünnungsflüssigkeit}}$$

Der Gehalt an D-Lactat im Fleisch wird in mg/g, die Konzentration im Fleischsaft in mg/ml angegeben.

3.2.2.6 Empfindlichkeit

Die untere Nachweisgrenze von D-Lactat im Fleischsaft lag bei 0,1 mg/ml und im Fleisch bei 0,2 mg/g. Diese Limits ergaben sich aufgrund der vorgenommenen Verdünnung des Untersuchungsmaterials einerseits und der laut BOEHRINGER-Arbeitsanleitung notwendigen Mindestlactatmenge von 2 µg pro Küvette andererseits. Werte unterhalb der gesicherten Nachweisgrenzen wurden in den Tabellen als "Spuren" vermerkt.

3.2.2.7 Präzision

Die Präzision oder Reproduzierbarkeit einer Methode wird üblicherweise durch wiederholte Analysen einer Referenzprobe bestimmt. Sie wird dann in Form der Standardabweichung (s), davon abgeleitet als Variationskoeffizient VK (= Standardabweichung in % bezogen auf den Mittelwert) angegeben.
Tab. 6 enthält die Standardabweichungen (s) und Variationskoeffizienten (VK) des D-Lactats bei 18 Sechsfachbestimmungen an Testlösungen mit 9 verschiedenen Milchsäurekonzentrationen. Der Median der Variationskoeffizienten lag bei 1,34 %, was in guter Übereinstimmung mit den Angaben aus der Literatur steht (BERGEMEYER 1974, STEFFEN et al. 1975).

3.2.2.8 Eichgerade

Die Wiederfindungsrate nach dem vorgegebenen Berechnungsgang wurde an Verdünnungen einer vom Hersteller gelieferten Eichsubstanz (D-Lactat-Monolithiumsalz) mit je 2 x 6 D-Lactatbestimmungen ermittelt.
Hierzu wurden aus einer Stammlösung mit 45 mg D-Lactat pro 100 ml folgende Konzentrationen hergestellt:

0,45; 0,90; 1,80; 2,70; 3,60; 5,40; 7,20; 9,00; 12,60 (mg/100 ml).

Konzentration (mg/100 ml)	n	s	VK (%)
0,45	6	±0.0098	2,30
	6	±0.0105	3,04
0,90	6	±0.0014	0,48
	6	±0.0052	0,74
1,80	6	±0.0055	0,33
	6	±0.0052	0,74
2,70	6	±0.0532	2,03
	6	±0.0729	3,63
3,60	6	±0.0804	2,39
	6	±0.0574	2,04
5,40	6	±0.1018	1,93
	6	±0.0796	1,95
7,20	6	±0.3091	4,35
	6	±0.0363	0,67
9,00	6	±0.0189	0,21
	6	±0.0388	0,49
12,60	6	±0.0775	0,63
	6	±0.0427	0,38

Tabelle 6: Standardabweichungen (s) und Variationskoeffizienten bei 108 D-Lactatbestimmungen

eingesetzte Lactatmenge (mg/100 ml)	wiedergefundene Lactatmenge $\bar{x}$	s	Wiederfindungsrate %
0,00	0,01	±0,00	-
0,45	0,43	±0,01	95,55
0,90	0,85	±0,00	94,44
1,80	1,67	±0,01	92,78
2,70	2,62	±0,05	97,04
3,60	3,37	±0,08	93,61
5,40	5,39	±0,10	97,96
7,20	7,10	±0,31	98,61
9,00	8,83	±0,02	98,11
12,60	12,26	±0,08	93,70
			$\bar{x}$ 96,15
			s 2,13
			VK 2,21

Tabelle 7: Wiederfindung

Wie Tab. 7 zeigt, schwankte die Wiederfindungsrate der eingesetzten Lactat-Konzentrationen zwischen 92,8 und 98,6 %.
Eine Abnahme der Wiederfindungsraten mit steigenden Konzentrationen, wie bei LUKE (1978) und SCHNEIDER (1982) beschrieben, konnte nicht festgestellt werden. RÖSCHKE (1977) machte bei Pyruvatbestimmungen die Beobachtung, daß kristalline Substanzen beim Einwiegevorgang Luftfeuchtigkeit aufnahmen, so daß zu wenig Reinsubstanz eingewogen wurde. Analog läßt sich auch bei den vorliegenden Versuchen die stets unter 100 % liegende Wiederfindungsrate erklären. Weiterhin ist Tab. 7 zu entnehmen, daß der Methodenfehler, ausgedrückt durch die Standardabweichung s, zwischen den einzelnen Bestimmungen eines Ansatzes den Wert von ±0,10 mg/100 ml mit einer Ausnahme nicht überschreitet. Auf die Lactat-Gehalte der Proben bezogen, war dieser Fehler zu vernachlässigen.

c (mg/100 ml)	ΔE					
0,00	.003	.002	.003	.002	.003	.002
0,45	.134	.135	.131	.133	.134	.126
0,90	.262	.262	.263	.262	.262	.259
1,80	.510	.510	.516	.513	.511	.514
2,70	.080	.081	.082	.079	.083	.079
3,60	.104	.104	.105	.106	.099	.104
5,40	.164	.166	.157	.163	.163	.165
7,20	.223	.229	.229	.213	.213	.206
9,00	.272	.271	.272	.273	.272	.272
12,60	.381	.375	.375	.378	.379	.378

Tabelle 8: Zusammenstellung der Extinktionsdifferenzen bei 6-fach Bestimmungen an 10 verschiedenen Testlösungen

Anhand der in Tab. 8 aufgeführten Extinktionsdifferenzen bzw. den entsprechenden Datenpaaren wurde eine Eichgerade bestimmt. Mit Hilfe der linearen Regression wurde dann die Abhängigkeit zwischen vorgegebener und nachgewiesener Lactatmenge berechnet und als Gerade dargestellt.

In den Formeln stellt x die Konzentration und y die Extinktionsdifferenz dar. Gilt y als die abhängige Variable, ergibt sich bei einer Angabe

für ein Probevolumen von 1,0 ml

$$y = +.2811x$$

für ein Probevolumen von 0,1 ml

$$y = +.0303x$$

y = Extinktionsdifferenz ΔE
($E_{Probe} - E_{Leerwert}$)

x = Konzentration c
(mg/100 ml D-Lactat)

Zur Ermittlung der Milchsäurekonzentration in den Fleisch- bzw. Saftproben anhand der Extinktionsdifferenzen mußten die vorstehend genannten Gleichungen nach x aufgelöst und der durch die Probenaufbereitung bedingte Verdünnungsfaktor F berücksichtigt werden.

Danach galt:

Probevolumen 0,1 ml $\quad c = \frac{E}{0.0303} \times \frac{F}{100}$ (mg D-Lactat/ml Saft bzw. g Fleisch)

Probevolumen 1,0 ml $\quad c = \frac{E}{0.2811} \times \frac{F}{100}$ (mg D-Lactat/ml Saft bzw. g Fleisch)

Hierbei war F wegen der unterschiedlichen Probengewichte für jede Probe gesondert zu berechnen.

3.2.3 pH-Wert-Messung

Die pH-Werte im Kern der Fleischteilstücke und die pH-Werte des Fleischsaftes wurden mit einer Stichelektrode der Firma INGOLD, Typ 406-M6, der pH-Wert an der Fleischoberfläche mit einer Oberflächenelektrode des gleichen Herstellers, Typ 403-K7, gemessen.
Als Anzeigegerät diente ein Digital-pH-Meter der Firma KNICK, Berlin.

Bei der täglichen Messung des Oberflächen-pH-Wertes während der aeroben Lagerung wurden fünf Meßpunkte herangezogen und die Werte arithmetisch gemittelt.
Die verwendeten Elektroden wurden vor jedem Meßdurchgang geeicht.

3.2.4 Sensorische Untersuchungen

3.2.4.1 Erweiterte Dreiecksprüfung

Mit Hilfe einer sensorischen Prüfung sollte der Zeitpunkt sinnfällig wahrnehmbarer Verderbniserscheinungen bei der Lagerung von vakuumverpacktem Rindfleisch festgestellt werden.
Für diese Fragestellung mußte ein Testverfahren gewählt werden, das sich unter Verwendung tiefgefrorener Kontrollproben besonders zur statistisch abgesicherten Feststellung geringer sensorischer Unterschiede eignete. Insbesondere bot sich die Dreiecksprüfung (Triangel-Test) nach DIN 10 951 an, welche vom Normenausschuß Lebensmittel- und landwirtschaftliche Produkte (NAL 1978) im DIN (Deutsches Institut für Normung e.V.) für diesen Anwendungsbereich empfohlen wird. Um neben der reinen Unterschiedsprüfung auch den Grad der Veränderungen zu erfassen, kam der Test in seiner erweiterten Fassung zur Anwendung. Auf die besondere Eignung dieses Testverfahrens zur Feststellung der Anwesenheit bzw. Abwesenheit auch geringer sensorischer Unterschiede und deren Zuordnung in Analysen- oder Kontrollprobe sowie der Intensitätsbestimmung des Unterschiedes wird von verschiedenen Autoren hingewiesen (DUERR 1981, EINHOFF 1981, JELLINEK 1981, KIERMEIER u. HAEVECKER 1972, KREUTER 1978a,1978b, PAULI 1981a,1981b, PAULUS 1976, PAULUS et al. 1979, TÄNDLER 1980, WIRTH u. HAUPTMANN 1980). Als wichtiger Vorteil gilt weiterhin, daß sich statistisch signifikante Ergebnisse bereits mit wenigen Prüfern erzielen lassen. Allerdings gibt GRIDGEMAN (1970) der paarweisen Unterschiedsprüfung den Vorzug, da diese den Prüfer psychosensorisch weniger belastet und insgesamt einfacher in der Durchführung ist.
DAVIDEK (1981) fand bei vergleichbaren Untersuchungen an verschiedenen Lebensmitteln mit dem Triangel- und dem Tetradentest Vorteile für den Tetradentest, weil dieser bei etwas höherem Materialaufwand gegenüber dem Triangeltest auch mit ungeübten Prüfern durchführbar ist.

3.2.4.1.1 Durchführung

Vier geschulte, über Prüfzweck und -methodik informierte Prüfer erhielten pro Versuchsreihe mindestens eine Analysenprobe (A) und Kontrollprobe (K) als drei Einzelproben auf markierten Prüftellern (1,2,3) vorgelegt, wobei nach einer Zufallstabelle die jeweilige Verteilung (2A + 1K o. 2K + 1A) und deren Anordnung (AKK, AKA, KAA bzw. KKA, KAK, AKK) ausgewählt wurden. Zur Verkostung wurden Analysenprobe und die am Untersuchungstag aufgetaute Kontrollprobe in einem Mikrowellenherd (Firma NATIONAL, Typ 2000, Leistung 2000 W) ca. 60 sec erhitzt und in heißem, durchgartem Zustand den Prüfern zur organoleptischen Untersuchung vorgelegt.

Mittels vorgegebener Protokollbogen (Abb. 2) mußte in einer vierstufigen Fragestellung der Unterschied, die Zuordnung der abweichenden Probe, das Vorliegen von Verderbsanzeichen sowie deren Intensität ermittelt werden. Diese Erweiterung des üblichen Triangeltests mit 1- bzw. 2-stufiger Fragestellung durch Einbeziehung der Frage nach dem Grad der Abweichungen bei der Versuchsprobe sollte über die einfache Unterschiedsfeststellung hinaus versuchsspezifische Informationen erbringen. Vor allem sollte der Zeitpunkt exakt ermittelt werden, zu dem bei vakuumverpacktem Fleisch Qualitätseinbußen auftreten bzw. Verderbnis sinnfällig wird. Eine abgestufte Beurteilung ist insofern von Bedeutung, weil § 17 LMBG zwischen wertgemindert (Abs.1 Nr.2b) und nicht zum Verzehr geeignet (Abs.1 Nr.1) differenziert und daraus eine unterschiedliche Beurteilung resultiert.

3.2.4.1.2 Auswertung

Antworten auf Frage 1 des Protokollbogens, mit der das Vorliegen eines Unterschiedes zu ermitteln war, wurden entweder als "richtig" o. "falsch" bewertet. Als falsch galten Antworten, bei denen die abweichende Einzelprobe einer falschen Position (1,2,3) zugeordnet wurde oder kein Unterschied zwischen den Proben feststellbar war (DIN 10 951). In diesen

Fällen wurden die weiteren Antworten des betreffenden Prüfers nicht berücksichtigt. Gleichfalls richtige oder falsche Antworten waren bei Frage 2 nach der Zuordnung der abweichenden Probe in Analysen- oder Kontrollprobe möglich. Somit ließen sich bei richtiger Beantwortung der Frage 1 und 2 pro Prüfer zwei Punkte erreichen, die in den Abbildungen und Tabellen als Sensorikpunktzahl mit maximal 8 Punkten bei 4 Prüfern aufgeführt wurden.

Neben der Unterschiedsprüfung wurde anhand der Fragen 3 und 4 noch ein weiteres Punktesystem zur graduellen Beurteilung der Normabweichungen eingeführt. A priori darf nämlich nicht unterstellt werden, daß ein sensorisch feststellbarer Unterschied mit Verderbsprozessen in der Analysenprobe gleichzusetzen ist, weil die für vakuumverpacktes und gereiftes Fleisch typische Milchsäurekomponente bereits organoleptisch manifeste Differenzen zur Kontrollprobe hervorrufen kann. Dieses Merkmal ist in schwacher bis mäßiger Ausprägung sogar erwünscht und bedeutet "kein Abweichen von der Verkehrsauffassung". Aus diesem Grunde war es wichtig, bei richtigen Antworten auf Frage 1 und 2 die Art des Unterschiedes zu beschreiben (Frage 3). Erst wenn Verderbsanzeichen vorlagen, sollte mit der Antwort auf Frage 4 deren Intensität angegeben werden.

Die Einteilung in die 3 Stufen "gering, mittelgradig, stark verdorben" resultierte aus Erkenntnissen von Vorversuchen. Es hatte sich nämlich gezeigt, daß Proben die vom eigentlichen Prüferteam mit seiner guten Erfahrung bei der Bewertung gereiften Fleisches bereits "mittelgradig verdorben" eingestuft wurden, von anderen Personen, die mit der speziellen Fragestellung des Versuches nicht vertraut waren, aber dennoch als geschulte Sensoriker anzusehen waren, oft noch für einwandfrei gehalten wurden.
Um nicht überscharf zu urteilen, wurde daher der Zeitpunkt des "eindeutigen Verderbs" dann angesetzt, wenn alle 4 Prüfer mindestens "mittelgradig verdorben" diagnostiziert hatten. Die kritische Punktzahl betrug folglich 8.

Versuch Nr. Datum

Prüfer

Prüfkriterium: Geschmacklich feststellbare Verderbsanzeichen

1. Von den vorgelegten 3 Proben sind 2 identisch.
   Versuchen Sie die abweichende Probe zu ermitteln!

   Die abweichende Probe ist: A B C kein Unterschied

2. Die abweichende Probe ist: Versuch (vak.-gelagert)
   Kontrolle (gefr.-gelagert)

3. Entdecken Sie bei der Versuchsprobe Anzeichen von Verderb?

   NEIN JA

4. Wenn Verderbsanzeichen vorliegen, wie stufen Sie diese ein?

   geringgradig (nicht mehr frisch)
   mittelgradig (alt, unrein)
   stark (muffig, faulig)

Bemerkungen:

Abb. 2: Muster eines Protokollbogens zur erweiterten Dreiecksprüfung

3.2.4.1.3 Statistische Auswertung der Ergebnisse

Zur statistischen Auswertung wurden lediglich die Antworten zu Frage 1 und 2 herangezogen. Für eine Prüfung mit 4 Personen hat bereits SCHNEIDER (1982) berechnet, welche Mindestpunktzahl die Absicherung eines Unterschiedes erfordert. Danach besteht schon bei 6 von 8 erreichbaren Punkten mit 95 %iger Wahrscheinlichkeit eine reale Differenz zwischen Kontroll- und Versuchsprobe.
Auf die statistische Bewertung der Antworten nach dem Verderbnisgrad wurde bewußt verzichtet, weil das Klassifizieren von sensorischen Abweichungen auch bei genügender Schulung der Prüfer subjektive Komponenten enthalten muß, die eine mathematisch-statistische Betrachtung nicht angebracht erscheinen lassen.

3.2.4.2 Geruch, Farbe, Aufrötung und Farbhaltung des gelagerten Fleisches

Die Beurteilung von Geruch, Farbe, Aufrötung und Farbhaltung wurde zunächst an den vakuumverpackten Proben, zum anderen an den im Anschluß an die Vakuumlagerung aerob aufbewahrten Fleischscheiben vorgenommen.

3.2.4.2.1 Vakuumgelagerte Proben

Nach dem Öffnen des Kunststoffbeutels wurde sofort eine Geruchsprüfung vorgenommen. Darauf folgte eine ca. 30-minütige offene Lagerung der Probe bei +4 °C. Nach dieser Zeit wurde subjektiv das Aufrötevermögen beurteilt und der Oberflächen-pH-Wert gemessen sowie eine erneute Geruchsprüfung vorgenommen.

3.2.4.2.2 Aerob gelagerte Proben

Die Proben wurden täglich auf Geruch, Farbe und Farbhaltung geprüft und der Oberflächen-pH-Wert bestimmt.
Die Haltbarkeitsreserve bei aerober Lagerung (retail conditions) wurde dann als erschöpft bewertet, wenn bei fachlicher Beurteilung Farbabweichungen zum Verlust der Verkaufsfähigkeit oder Geruchsabweichungen zum Verlust der Verzehrsfähigkeit (§ 17(1), Nr. 1 LMBG) geführt hatten.

3.2.5 Prüfung von Zusammenhängen zwischen einzelnen Variablen

Zur Prüfung von Zusammenhängen unterschiedlicher Parameter wurde der SPEARMAN'sche-Rangkorrelationskoeffizient (r_s) herangezogen.
Dieses Maß findet Anwendung, wenn eine beliebige stetige Verteilung vorliegt, ohne daß eine Normalverteilung unterstellt werden kann (WEBER 1980). Es wurde auf eine signifikant von 0 verschiedene Korrelation geprüft ($\alpha = 0{,}05$).

Mittels Produkt-Moment-Korrelation wurde versucht, Zusammenhänge der einzelnen Parameter(Keimgruppen, D-Lactat) zwischen Fleischsaft und Fleischoberfläche aufzuzeigen.

3.2.6 Vorversuch zur Ermittlung des Stichprobenfehlers zwischen den Packungen einer Charge

Weil die Zeitreihenuntersuchungen nicht an identischen Fleischstücken sondern an Mehrfachproben eines definierten Ausgangsmaterials durchgeführt wurden, erschien es notwendig, die Unterschiede zwischen den Fleischscheiben in einem Vorversuch zu erfassen. Zur Ermittlung des Stichprobenfehlers wurden jeweils 10 im Labor verpackte Proben nach dem 20. sowie 50. Lagerungstag parallel analysiert.

Unter Berücksichtigung des arithmetischen Mittelwertes $\bar{x}$ der Keimzahllogarithmen wird der Stichprobenfehler durch die Standardabweichung s charakterisiert und in den Tab. 9 und 10 angegeben. Sofern einzelne Keimzahlen unterhalb der Nachweisgrenze lagen, wurde ein Wert von 2,0 (untere Nachweisgrenze) eingesetzt. Unter diesen Umständen fallen die geschätzten Streuungen allerdings niedriger als in Wirklichkeit aus.

Der Vergleich beider Tabellen zeigt, daß die Abweichungen am 20. und 50. Lagerungstag keine einheitliche Tendenz aufweisen. Der Stichprobenfehler für die pH-Wert-Messung war in beiden Durchgängen sehr niedrig. Trotz 20-tägiger Lagerung konnte zu diesem Zeitpunkt kein D-Lactat, bzw. nur in Spuren unterhalb der gesicherten Nachweisgrenze ermittelt werden.
Auch für alle anderen Parameter zeigt sich eine ausreichende Homogenität, die Strukturbrüche bei der Zeitreihenuntersuchung weitgehend ausschließt.

Proben-Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	$\bar{x}$	s
ISO 30°	5.30	5.34	5.15	5.78	5.00	6.41	5.90	5.60	5.70	5.60	5.58	±0,41
ISO 4°	5.30	5.15	4.90	5.30	5.00	5.30	5.30	5.30	5.30	5.30	5.22	±0,15
La 30°	4.90	5.26	5.20	5.60	3.45	6.00	5.15	4.60	5.48	5.20	5.08	±0,69
LS 30°	2.78	3.53	3.30	4.08	3.64	4.90	4.00	4.60	3.90	4.86	3.96	±0,69
GSP 22°	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	-	-
GSP 4°	4.30	4.00	3.30	4.30	3.30	4.26	4.20	4.60	3.30	4.30	3.99	±0,50
STAA 22°	4.60	5.15	4.78	5.08	4.20	5.08	5.51	5.41	5.00	4.78	4.96	±0,39
VL 30°	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	2.78	<2.0	<2.0	2.60	<2.0	-	-
VG 30°	<2.0	<2.0	<2.0	2.60	<2.0	3.08	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	-	-
En 37°	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	-	-
Kr 37°	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	-	-
Ro 22°	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	-	-
pH-Wert	5,5	5,5	5,5	5,4	5,6	5,6	5,5	5,6	5,6	5,6	5,4	±0,07
D-Lactat mg/g	n.n.*	n.n.	n.n.	n.n.	Sp**	Sp	Sp	Sp	Sp	Sp	-	-

Tabelle 9: Ermittlung des Stichprobenfehlers anhand von 10-fach Bestimmungen nach 20-tägiger Lagerung bei +2 °C .
(Angabe der Keimzahlen als dekadischer Logarithmus)

Untere Nachweisgrenze liegt bei den Keimzahlen bei 2.0 .
Zur Berechnung von $\bar{x}$ und s wurde dieser Wert eingesetzt.
* n.n. = nicht nachweisbar ** Sp = Spuren

Proben-Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	$\bar{x}$	s
ISO 30°	7.78	7.53	7.15	6.72	7.08	6.60	7.00	7.08	7.48	7.08	7.14	±0,36
ISO 4°	6.78	7.00	7.78	6.68	6.90	6.08	6.90	7.20	7.15	7.20	6.97	±0,45
La 30°	6.90	7.30	7.08	5.60	6.90	6.90	7.00	7.15	6.78	6.30	6.79	±0,50
LS 30°	6.00	7.08	6.62	5.30	7.00	6.20	6.38	6.08	5.90	6.45	6.30	±0,53
GSP 22°	3.08	<2.0	<2.0	3.60	3.60	<2.0	2.60	4.00	<2.0	3.08	-	-
GSP 4°	<2.0	2.60	<2.0	2.78	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	2.90	-	-
STAA 22°	3.30	<2.0	<2.0	4.41	<2.0	4.00	3.90	3.30	4.30	3.60	3.28	±0,96
VL 30°	<2.0	<2.0	<2.0	2.14	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	-	-
VG 30°	4.86	<2.0	<2.0	2.78	<2.0	3.82	5.08	<2.0	3.79	2.78	-	-
En 37°	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	-	-
Kr 37°	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	-	-
Ro 22°	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	-	-
pH-Wert	5,5	5,4	5,5	5,5	5,5	5,5	5,4	5,5	5,5	5,4	5,5	±0,05
D-Lactat mg/g	1,69	1,85	1,90	2,32	2,56	2,31	2,50	1,80	1,63	2,33	2,09	±0,35

Tabelle 10: Ermittlung des Stichprobenfehlers anhand von 10-fach Bestimmungen nach 50-tägiger Lagerung bei +2 °C .
(Angabe der Keimzahlen als dekadischer Logarithmus)

Untere Nachweisgrenze liegt bei den Keimzahlen bei 2.0 .
Zur Berechnung von $\bar{x}$ und s wurde dieser Wert eingesetzt.

3.3 Ergebnisse

Im Anhang finden sich sämtliche Untersuchungsergebnisse als Tabellen und Graphiken. Dabei sind die Keimzahlen als dekadische Logarithmen koloniebildender Einheiten (KBE) angegeben. Die Zahlen gelten jeweils für einen cm^2 Fleischoberfläche bzw. einen ml Untersuchungsmaterial. Die Werte der KBE/g Fleisch wurden wegen der nur geringen Differenzen gegenüber den Oberflächenwerten nicht für die graphischen Darstellungen verwendet. Die Angaben für D-Lactat gelten jeweils für ein g bzw. einen ml Untersuchungsmaterial und bilden das arithmetische Mittel von Doppelbestimmungen.

3.3.1 Keimstatus

Bei der graphischen Darstellung der Keimentwicklung bestanden die alternativen Möglichkeiten, jeden Versuch getrennt zu betrachten oder aber den Wachstumsverlauf der einzelnen Keimarten über die vier Erhebungen synoptisch aufzutragen. Nachfolgend wurde der zweite Weg gewählt, da hierbei insbesondere die Ausnahmestellung des Vers. IV deutlicher hervortrat und sich darüber hinaus mehr Informationen über material- und methodenbezogene Unterschiede erkennen ließen (Abb. 3 - 10).
Das jeweils gesamte Keimspektrum innerhalb der Einzelversuche I - IV findet sich zusätzlich im Anhang graphisch dargestellt.

3.3.1.1 Gesamtkeimzahl (Abb. 3a,b u. 4a,b)

Während in den Vers. I,III und IV eine ca. einwöchige lag-Phase zu verzeichnen war, stieg die Gesamtkeimzahl bei Vers. II auf der Fleischoberfläche ohne jede Verzögerungsphase sofort an, um nach 3 Wochen Lagerdauer auf einem Plateau in der Größenordnung von 10^8 Keimen/cm^2 zu stagnieren. In den übrigen Versuchen belief sich die maximale Keimdichte auf etwa $10^7/cm^2$, ein Wert, der in den Vers. I und III nach 3 Wochen, bei Vers. IV

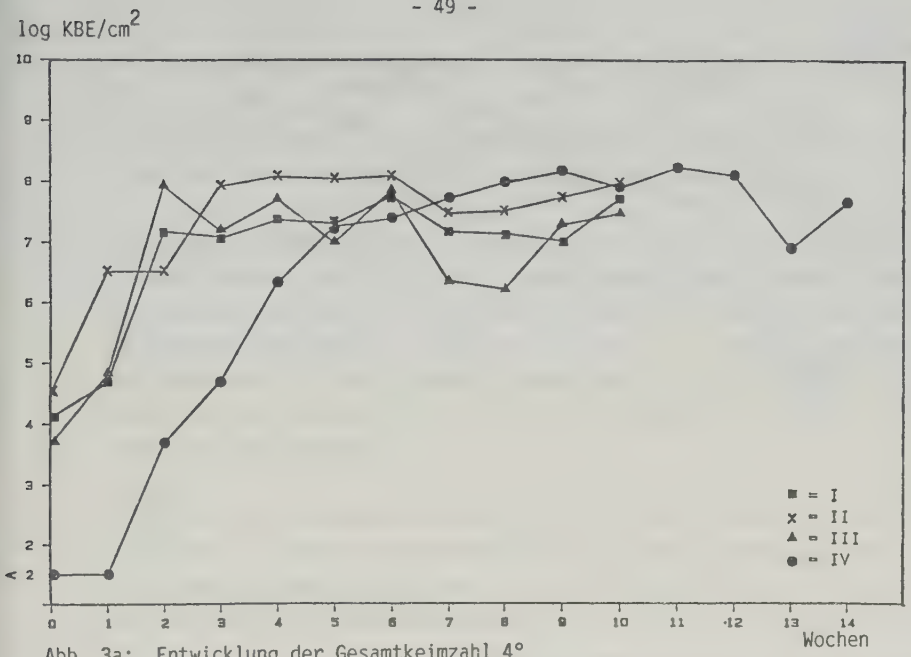


Abb. 3a: Entwicklung der Gesamtkeimzahl 4°
auf der Fleischoberfläche

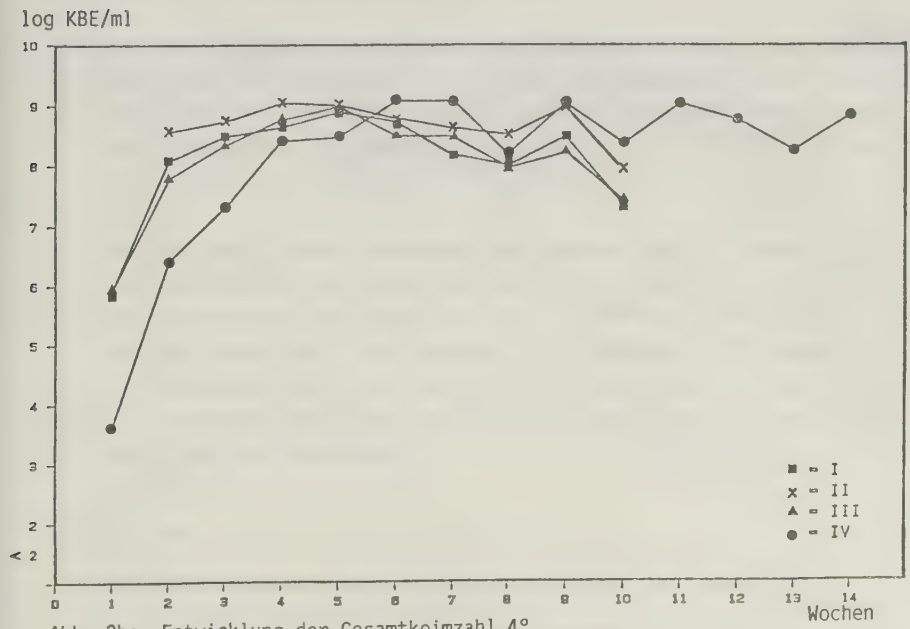


Abb. 3b: Entwicklung der Gesamtkeimzahl 4°
im Fleischsaft

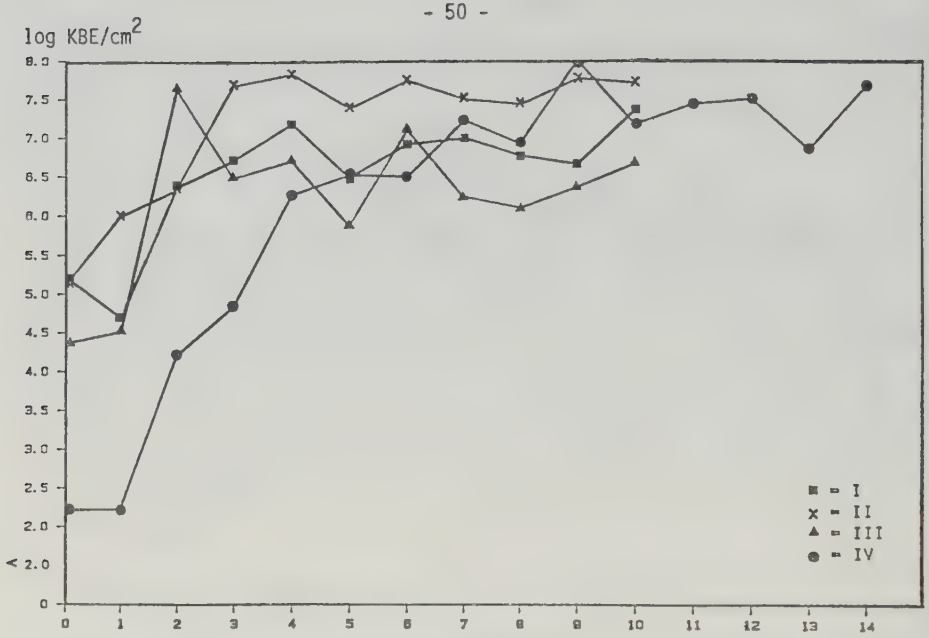


Abb. 4a: Entwicklung der Gesamtkeimzahl 30° auf der Fleischoberfläche

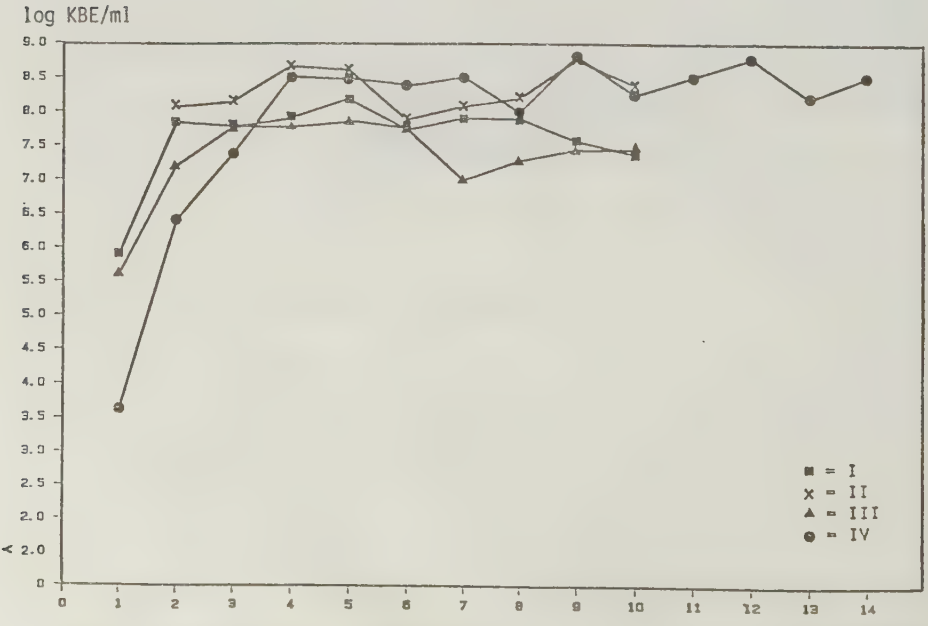


Abb. 4b: Entwicklung der Gesamtkeimzahl 30° im Fleischsaft

nach etwa 7 Wochen erreicht war. Danach ließen sich, von geringen Schwankungen abgesehen, keine weiteren Anstiege feststellen.

Da Fleischsaft frühestens nach 1 Woche (Vers. I,III und IV) bzw. nach 2 Wochen (Vers. II mit DFD-Fleisch) Vakuumlagerung gewonnen werden konnte, sind Aussagen über die Dauer einer lag-Phase in diesem Substrat nicht möglich. Der weitere Keimanstieg im Fleischsaft zeigte einen einheitlichen Verlauf. Nach 3 Wochen Lagerung, bei Vers. IV nach 4 Wochen, hatte sich die Keimzahl um 10^8/ml eingependelt, wobei bei Vers. II u. IV die höheren Werte auftraten.

Gegenüber einer Inkubation bei 30 °C erbrachte die Bebrütung der ISO-Platten bei 4 °C über 7 Tage durchschnittlich eine geringfügig höhere Keimausbeute (siehe Tabellenanhang). Ein relevanter Unterschied zwischen der mesophilen und psychrotoleranten Keimzahl bestand aber nicht.

3.3.1.2 Laktobazillen (Abb. 5a u. 5b)

Auf der Fleischoberfläche wuchsen die Laktobazillen meist ohne deutliche Verzögerung auf Werte zwischen 10^6 und $10^7/cm^2$ an und bildeten somit den dominierenden Floraanteil. Lediglich bei Vers. IV vermehrten sich die Laktobazillen nur langsam. Sie erreichten erst nach 9 Wochen ihre maximale Zahl von ca. $10^7/cm^2$.

Im Fleischsaft war das verzögerte Wachstum bei Vers. IV weniger deutlich ausgeprägt, aber noch deutlich feststellbar. Insbesondere im Vergleich zur Fleischoberfläche zeigte sich hier die stärkere Entwicklung der Laktobazillen, deren Zahl nach 4 Wochen ca. 3 Log-Einheiten über denen auf der Fleischoberfläche lag. Die Differenz zwischen der Laktobazillendichte von Fleischsaft und -oberfläche betrug bei den übrigen 3 Versuchen dagegen nur eine Zehnerpotenz.

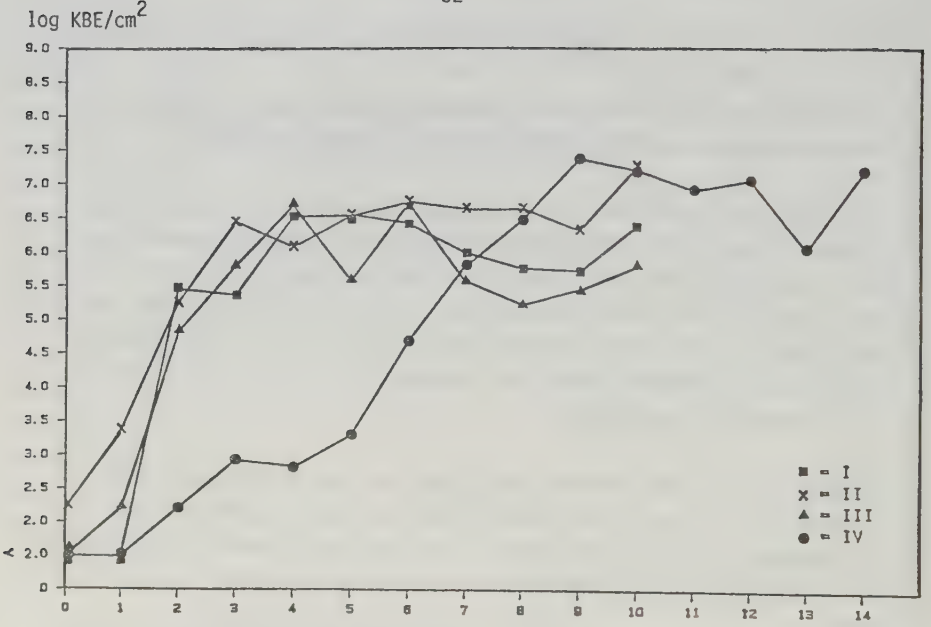


Abb. 5a: Entwicklung der Laktobazillen (LS-Agar) auf der Fleischoberfläche

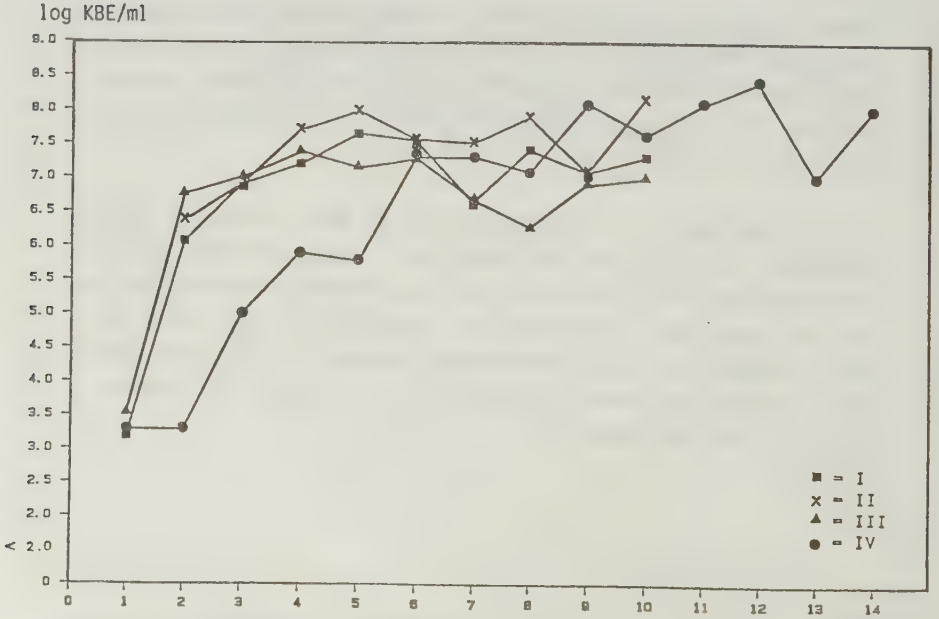


Abb. 5b: Entwicklung der Laktobazillen (LS-Agar) im Fleischsaft

3.3.1.3 Brochothrix thermosphacta (Abb. 6a u. 6b)

Während sich bei den Vers. I bis III, in denen diese Spezies bereits bei Versuchsbeginn mit mehreren Tausend/cm^2 vertreten war, eine gesicherte Vermehrungstendenz auf der Fleischoberfläche nicht nachweisen ließ, stieg bei Vers. IV Brochothrix thermosphacta in den ersten 4 Wochen auf etwa $10^6/cm^2$ an, um auf diesem Niveau zu verharren. Stets bildete diese Bakterienspezies in der ersten Lagerwoche den dominierenden Floraanteil und stellte mit Zahlen um $10^6/cm^2$ bei Vers. II und IV auch am Ende der Lagerung noch die zweitstärkste Komponente dar.

Bei Vers. IV entwickelte sich im Fleischsaft Brochothrix thermosphacta bis zur 8. Lagerwoche simultan mit den Laktobazillen und kam auf eine Größenordnung von 10^7/ml, um dann auf diesem Wert zu verharren. In den anderen Versuchen dagegen bestand eine deutliche Tendenz, nach Erreichen des Plateaus von maximal ca. 10^6 - 10^7/ml bis zum Versuchsende wiederum auf etwa 10^5 abzusinken.

3.3.1.4 Enterobakteriazeen (Abb. 7a u. 7b)

In allen 4 Versuchen stiegen die Enterobakteriazeenzahlen auf der Fleischoberfläche kontinuierlich bis zum Versuchsende an. Gegenüber $10^4/cm^2$ bei Vers. I und III wurden in Vers. IV dabei Maximalwerte von $10^6/cm^2$ erreicht. Zu Beginn der Lagerung waren bei Vers. II bereits ca. $10^3/cm^2$ Enterobakteriazeen vorhanden, worauf bis zur 4. Woche ein steiler Anstieg auf $10^5/cm^2$ und danach ein Abfall auf etwa $10^4/cm^2$ folgte.

Ein auffallend starkes Wachstum zeigten die Enterobakteriazeen im Fleischsaft bei Vers. IV, denn sie erreichten dort Maximalwerte von ca. 10^7/ml. In den restlichen Versuchen trat eine gleichmäßige Zunahme auf. Nach 4 Wochen stagnierte die Populationsdichte zwischen 10^5 und 10^6/ml.

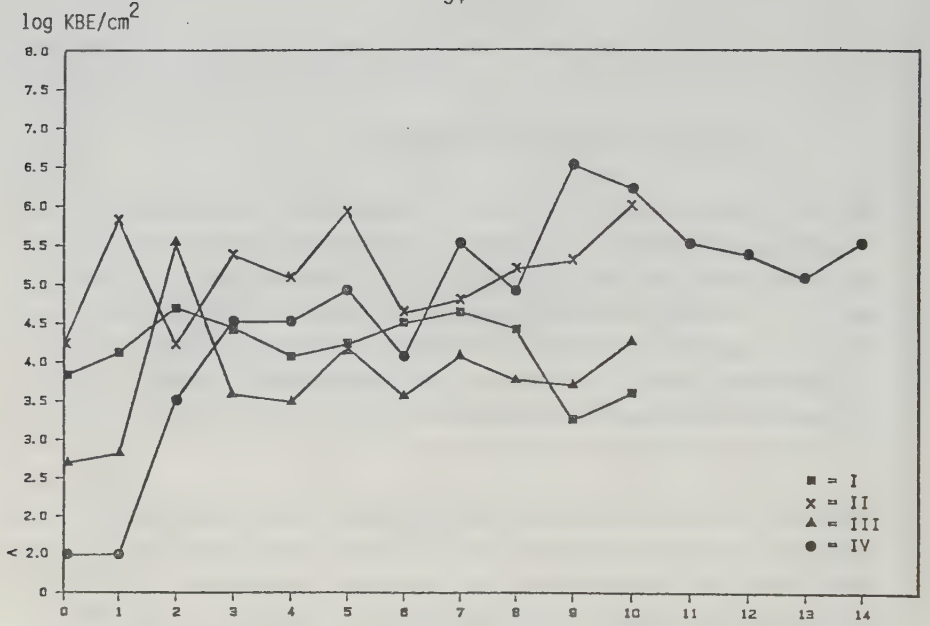


Abb. 6a: Entwicklung von Brochothrix thermosphacta auf der Fleischoberfläche

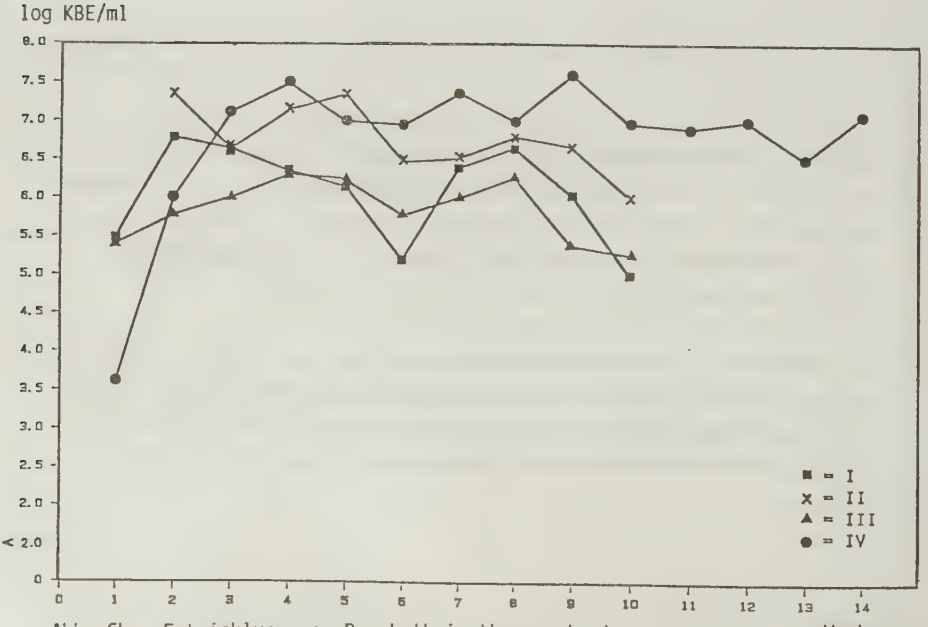


Abb. 6b: Entwicklung von Brochothrix thermosphacta im Fleischsaft

log KBE/cm^2

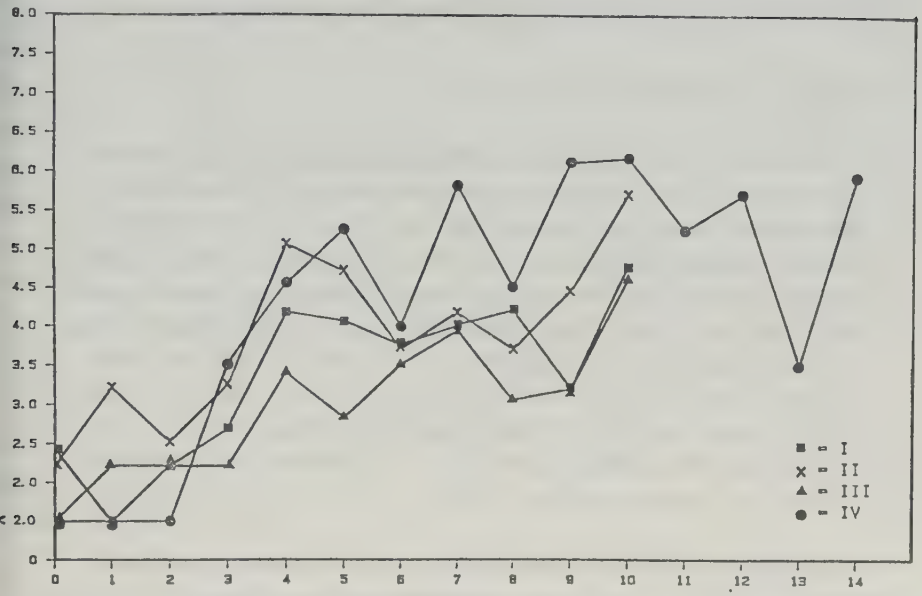


Abb. 7a: Entwicklung der Enterobakteriazeen auf der Fleischoberfläche

Wochen

log KBE/ml

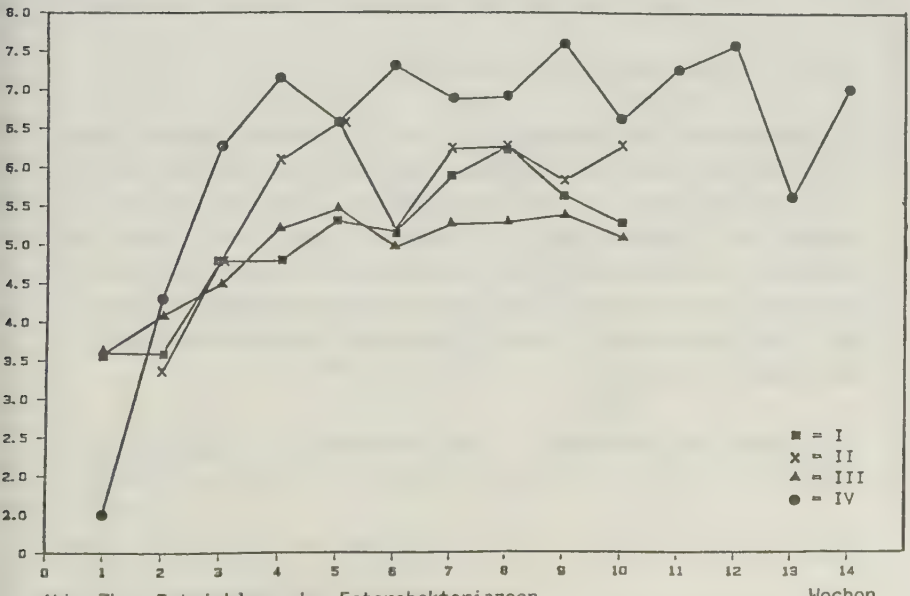


Abb. 7b: Entwicklung der Enterobakteriazeen im Fleischsaft

Wochen

3.3.1.5 Coliforme (Abb. 8a u. 8b)

Mit Ausnahme von Vers. IV war auf der Fleischoberfläche nach 2-wöchiger lag-Phase kein gleichmäßiges Wachstumsverhalten der coliformen Keime feststellbar. Während sie sich bei den Vers. I und III erst am Ende der Lagerung vermehrten, stiegen sie bei Vers. II zwischen 2. und 4. Lagerwoche steil auf $10^4/cm^2$ an, um anschließend bis unter die Nachweisgrenze von $10^2/cm^2$ zu fallen. Bei Versuchsende kam es zu einem erneuten Anstieg auf $10^3/cm^2$. Nach 2 Wochen vermehrten sich bei Vers. IV die Coliformen auf etwa 10^4 bis $10^5/cm^2$ und blieben dort unverändert. Der steile Abfall in der 13. Woche dürfte auf einem "Ausreißer" (Heterogenität des Probenmaterials) beruhen, zumal er Oberfläche und Saft betraf und in gleicher Weise bei den Enterobakteriazeen vorkam.

Im Fleischsaft hingegen zeigten die Coliformen ein anderes Verhalten, wobei sie in Vers. IV nach einer 1-wöchigen lag-Phase innerhalb von 3 Wochen steil auf etwa $10^7/cm^2$ anstiegen. In den übrigen Versuchen verliefen die Wachstumskurven relativ übereinstimmend mit einem abrupten Abfall am Versuchsende von $10^5/cm^2$ auf etwa $10^2/cm^2$.

3.3.1.6 Pseudomonaden (Abb. 9a u. 9b)

Zu Beginn der Untersuchungen lagen bei Vers. IV die Pseudomonaden auf der Fleischoberfläche unterhalb der Nachweisgrenze, um dann jedoch innerhalb einer Woche um fast 3 Log-Einheiten auf 10^4 bis $10^5/cm^2$ anzuwachsen. Einem in der 5. Woche eingetretenen Absinken folgte mit der 7. Woche ein erneuter Anstieg auf etwa $10^6/cm^2$. In den Vers. I,II und III ergaben sich recht unterschiedliche, flach ansteigende Wachstumskurven, die bei etwa $10^4/cm^2$ spätestens nach 8 Wochen Lagerung in einen abszissenparallelen Abschnitt übergingen.

Einem starken Anstieg zwischen 1. und 2. Woche auf 10^7/ml Fleischsaft von Vers. IV schlossen sich erheblich schwankende Keimzahlen an den nach-

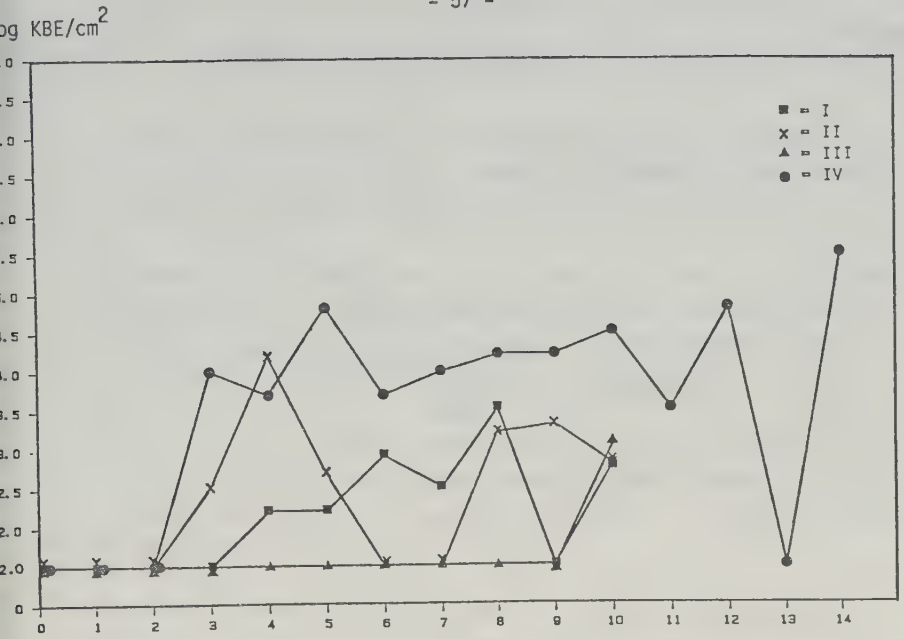


Abb. 8a: Entwicklung der Coliformen auf der Fleischoberfläche

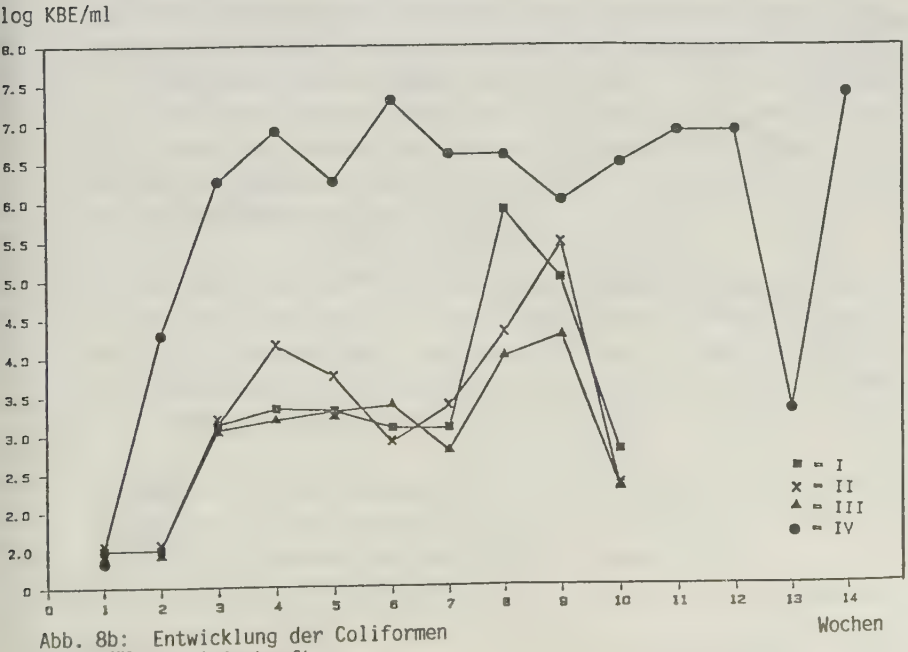


Abb. 8b: Entwicklung der Coliformen im Fleischsaft

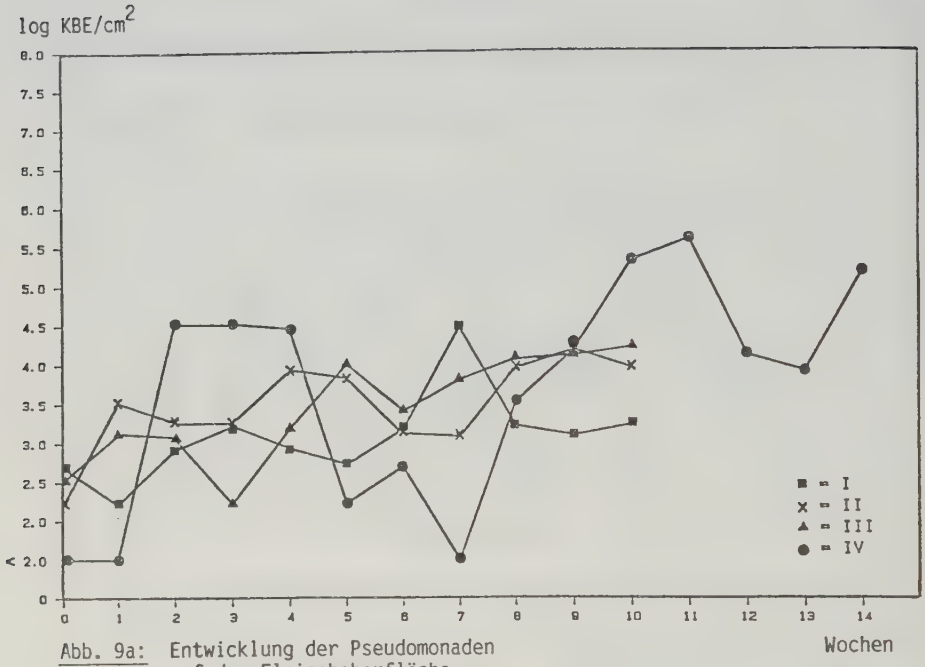


Abb. 9a: Entwicklung der Pseudomonaden auf der Fleischoberfläche

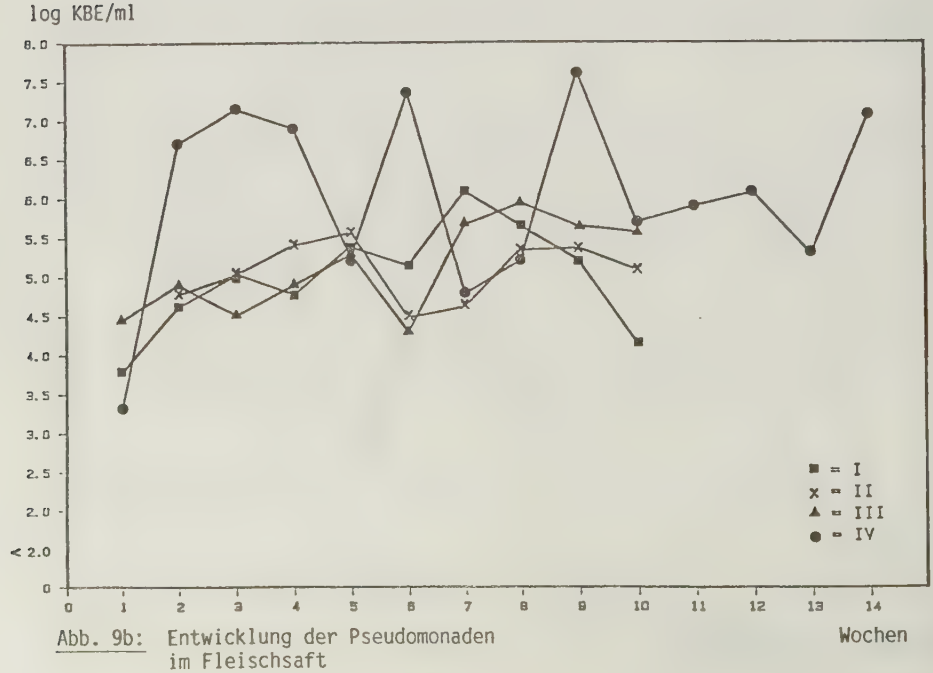


Abb. 9b: Entwicklung der Pseudomonaden im Fleischsaft

folgenden Untersuchungstagen an. Die übrigen Versuche erbrachten - wie auch auf der Fleischoberfläche - relativ eng zusammenliegende, gleichförmige Kurvenverläufe mit einem schwachen Anstieg auf 10^5 bis 10^6/ml.

Die Bebrütung der GSP-Platten bei 4 °C über 7 Tage führte gegenüber der 22 °C-Inkubation zu höheren Keimausbeuten (s. Tabellenanhang). Die auf dem GSP-Agar typisch wachsenden Aeromonaden ließen sich nur im Fleischsaft von Vers. II nachweisen, und zwar in einer Größenordnung um 10^4/ml.

Im Vergleich zur GSP-Platte wurden mit dem CFC-Agar regelmäßig um eine Zehnerpotenz höhere Zahl oxidasepositiver Kolonien ermittelt. Die grössere Ausbeute dürfte sich daher aus einer stärkeren Hemmwirkung des GSP-Agars erklären.

3.3.1.7 Hefen, Mikrokokken, Enterokokken

Den Hefen fehlte im Wachstumsverhalten eine einheitliche Tendenz. In den Vers. I und II verharrten sie auf der Fleischoberfläche über den gesamten Versuchszeitraum zwischen 10^3 und 10^4/cm^2. In den Vers. III und IV kam es am Versuchsende zu einem Anstieg auf etwa 10^5/cm^2. Im Fleischsaft hingegen wiesen die Hefen in den Vers. I,II und IV Keimzahlen um 10^5/ml über den gesamten Untersuchungszeitraum auf. Bei Vers. IV nahmen sie erst mit der 8. Lagerwoche zu und stellten sich auf einen Wert von etwa 10^4/ml ein (s. Abbildung im Anhang).

Die Mikrokokken-Zahlen fielen sowohl an der Fleischoberfläche als auch im Fleischsaft der Vers. I,II und III zum Ende der Lagerung deutlich ab. In Vers. IV waren bei Oberfläche und Saft in der 10. Woche jeweils einmalige Anstiege mit anschließendem, sofortigem Abfallen unter die Nachweisgrenze zu verzeichnen (s. Abbildung im Anhang).

Eigelbpositive Staphylokokken ließen sich zu keinem Zeitpunkt ermitteln. Der Nachweis von Enterokokken gelang nur in einigen Fällen und dann ausschließlich mit Keimdichten wenig über der Nachweisgrenze.

Insgesamt waren bei diesen zahlenmäßig nur untergeordneten Floraanteilen die Unterschiede zwischen den Vers. I bis III gegenüber Vers. IV weniger ausgeprägt als bei den anderen Keimgruppen.

3.3.2 D-Lactat (Abb. 10a u. 10b)

Zu Beginn der Lagerversuche lag in allen Versuchsreihen der D-Lactat-Spiegel unter der Nachweisgrenze. Jeweils mit Ausnahme von Vers. IV ließ sich dann mit der 2. Aufbewahrungswoche im Fleischsaft und von der 3. Woche an auch im Fleisch selbst D-Milchsäure feststellen. Im Verlauf der folgenden Analysen zeigte sich, daß sowohl im Fleisch als auch im Fleischsaft die Lactatbildung zwischen den Vers. I und III einerseits sowie Vers. IV andererseits deutlich differierte, während Vers. II eine Mittelstellung einnahm. Dabei bestand mit Ausnahme des Vers. IV eine offenkundige Abhängigkeit des D-Lactat-Gehaltes von der Lagerzeit und dem parallelen Anstieg der glykolytischen Fleischflora. Besonders markant war ein gleichförmiger, steiler Anstieg bei Vers. I und III, der sich erst in der 5. (Fleisch) bzw. 6. (Fleischsaft) Lagerwoche wieder abzuflachen begann. Demgegenüber stieg bei Vers. II das Lactat zwar ebenfalls deutlich an, die Kurve verlief jedoch flacher und ungleichmäßiger und erreichte mit Gehalten von ca. 3,5 mg/g Fleisch bzw. 4,5 mg/ml Fleischsaft in keinem Fall die Werte der Vers. I und III. Darüber hinaus fielen die Unterschiede der Lactatwerte zwischen Fleisch und Fleischsaft erheblich geringer als in den Vers. I und III aus. Bei diesen Versuchen verzögerte sich jeweils bei Gehalten von etwa 5 mg/g bzw. 5 mg/ml die Lactatproduktion.

Ein von den Vers. I bis III abweichendes Verhalten des D-Lactats bestand bei Vers. IV. Hier begann erst von der 7. (Fleisch) bzw. 8. (Fleischsaft) Lagerwoche an eine nennenswerte Lactatbildung, die jedoch in keinem Fall die Werte der anderen Versuche erreichte.

-Lactat mg/g

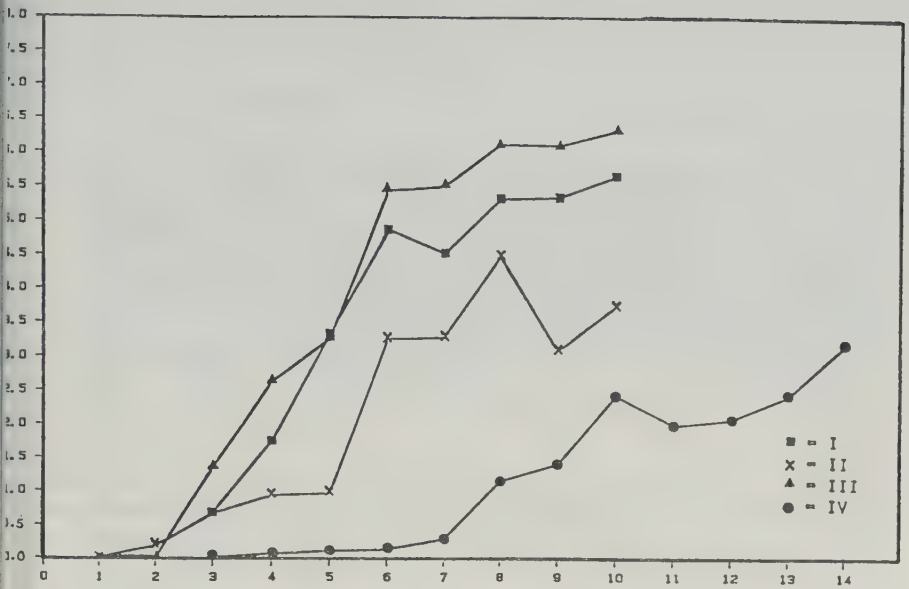


Abb. 10a: Entwicklung des D-Lactat-Gehaltes im Fleisch

)-Lactat mg/ml

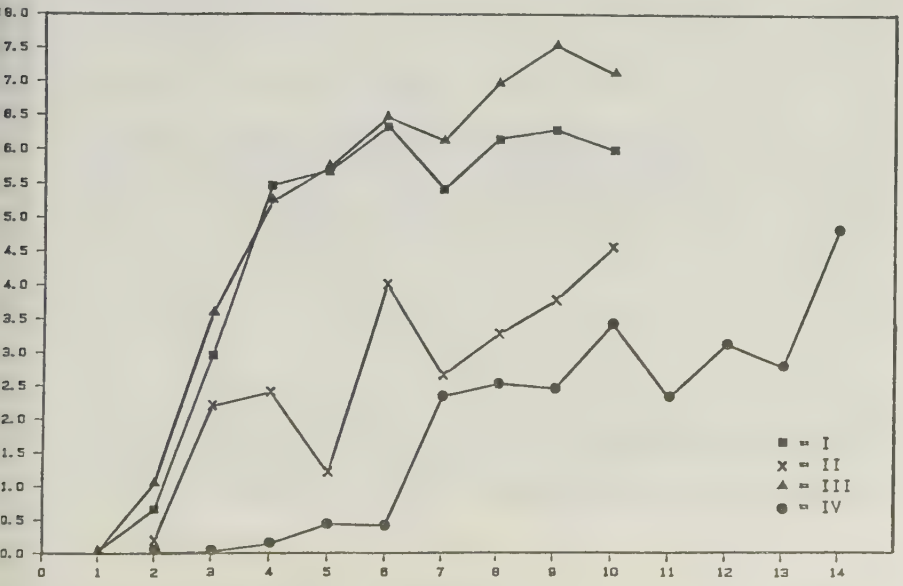


Abb. 10b: Entwicklung der D-Lactat-Konzentration im Fleischsaft

3.3.3 pH-Wert

Im Verlauf der Lagerung kam es lediglich bei Vers. I und III zu einer deutlichen und gleichmäßigen pH-Wert-Senkung sowohl auf der Fleischoberfläche als auch im Fleischsaft. Die Vers. II und IV erbrachten keine eindeutige Veränderung der Wasserstoffionenkonzentration. Zum Ende der Lagerzeit ließ sich sogar ein geringer Anstieg feststellen.

Versuch	I		II		III		IV	
Kern-pH	5,6		6,2		5,6		5,8	
Lagerwochen	Oberfl.	Saft	Oberfl.	Saft	Oberfl.	Saft	Oberfl.	Saft
1	5,5	5,5	5,9	-	5,5	5,6	5,7	5,5
2	5,5	5,5	6,1	6,0	5,6	5,4	5,7	5,7
3	5,6	5,5	5,8	5,7	5,5	5,4	5,7	5,7
4	5,5	5,2	6,0	5,6	5,4	5,2	5,8	5,7
5	5,4	5,2	5,9	5,9	5,2	5,2	5,8	5,7
6	5,4	5,2	5,7	5,6	5,2	5,2	5,6	5,7
7	5,3	5,4	5,7	5,9	5,2	5,2	5,7	5,7
8	5,3	5,3	5,9	5,8	5,1	5,1	5,8	5,6
9	5,3	5,2	5,9	5,8	5,1	5,1	5,7	5,7
10	5,3	5,2	5,9	5,8	5,2	5,1	5,5	5,6
11	-	-	-	-	-	-	5,7	5,7
12	-	-	-	-	-	-	6,0	6,0
13	-	-	-	-	-	-	5,5	5,7
14	-	-	-	-	-	-	5,8	5,7

Tabelle 11: pH-Wert-Entwicklung im Verlauf der Lagerung

3.3.4 Sensorik

3.3.4.1 Unterschiedsprüfung

Im ersten Teil des Triangeltests, der Frage nach einem möglichen Unterschied und der Zuordnung der Probe in Versuch oder Kontrolle, galt das Ergebnis dann als statistisch gesichert, wenn von erzielbaren 8 Punkten (4 x 2) das Prüferteam 6 Punkte erreichte (SCHNEIDER 1982). Demnach war bei Vers. IV nach 2 Wochen, bei Vers. II und III nach 3 Wochen und bei Vers. I nach 4 Wochen ein Unterschied zwischen Versuchs- und Kontrollproben gesichert.

Die Urteilstreue der Prüfer, d.h. gleichbleibend zuverlässiges Erkennen und richtiges Zuordnen der abweichenden Probe bis zum Testende, drückt sich graphisch in einer einheitlichen Säulenhöhe in der Unterschiedsprüfung aus (Abb. 11,12,13,14). Strukturbrüche zeigten sich lediglich bei Vers. IV. Daß alle Prüfer erhebliche Probleme mit Unterschied und Zuordnung der Proben bei eben diesem Versuch hatten, geht auch aus Abb. 14 hervor.

3.3.4.2 Intensitätsprüfung

Zusätzliche Informationen bietet die Intensitätsprüfung. Die festgelegte Grenze von 8 Punkten für eindeutig eingetretenen Verderb wurde innerhalb der Versuche zu unterschiedlichen Zeitpunkten erreicht. Am frühesten, nämlich nach 5 Wochen Vakuumlagerung, wurden die Proben von Vers. II als deutlich verdorben bewertet, in den Vers. I und III stellte sich dieses Urteil erst nach 6 Wochen ein. Eine Ausnahmestellung nahm wiederum Vers. IV ein, denn hier diagnostizierte das Prüferteam erst in der 12. Lagerwoche einen sinnfälligen Verderb. Zu den Abb. 11,12,13 und 14 wurden außer den Säulendiagrammen der Intensitätsprüfung auch die D-Lactat-Gehalte von Fleisch und Fleischsaft der jeweiligen Probe aufgetragen. Augenfällig war die übereinstimmende Entwicklung von organoleptischer

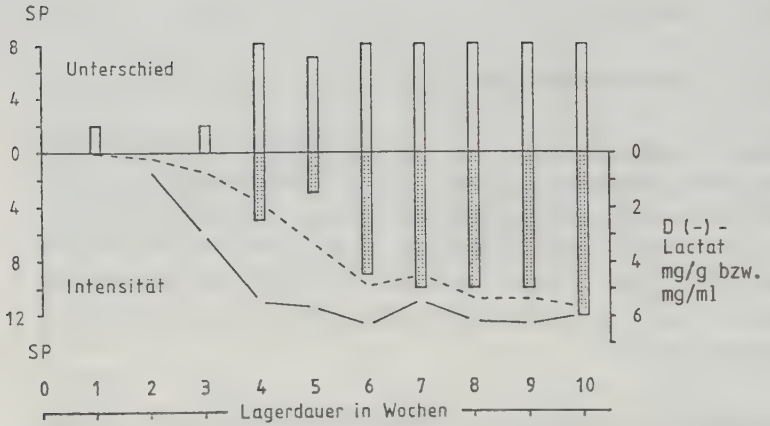


Abb. 11: Vers. I, sensorische Bewertung und D-Lactatkonzentration
(---- Fleisch, —— Saft)

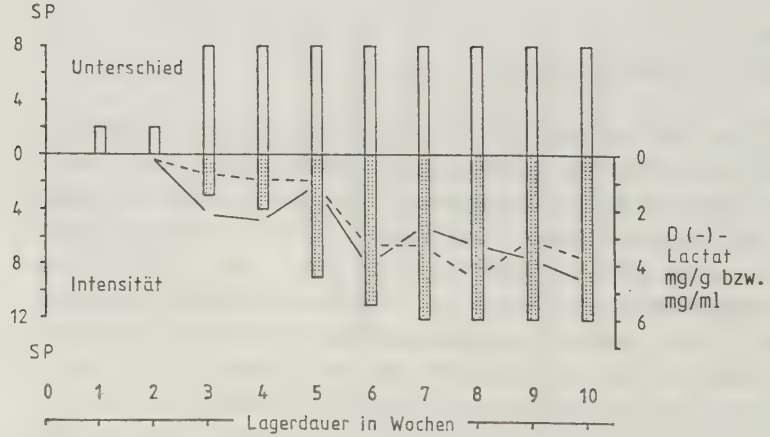


Abb. 12: Vers. II, sensorische Bewertung und D-Lactatkonzentration
(---- Fleisch, —— Saft)

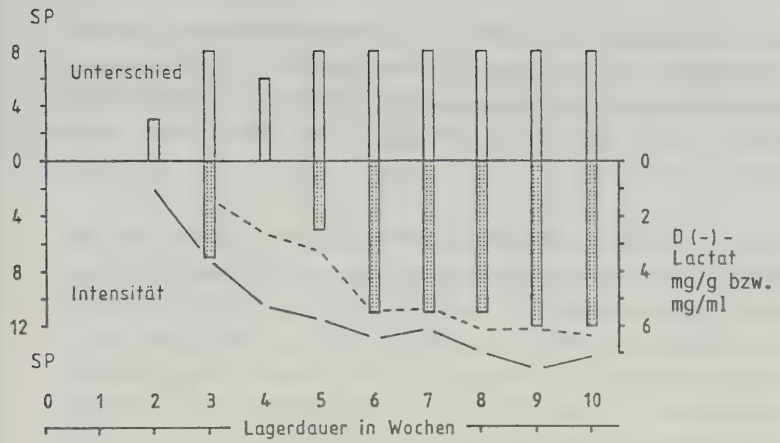


Abb. 13: Vers. III, sensorische Bewertung und D-Lactatkonzentration (---- Fleisch, —— Saft)

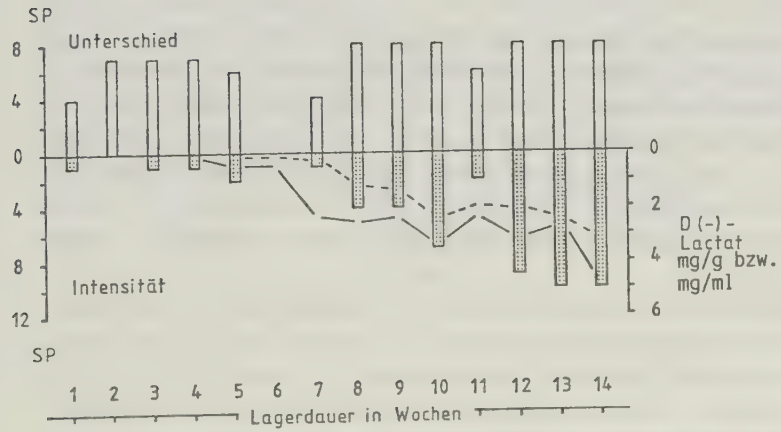


Abb. 14: Vers. IV, sensorische Bewertung und D-Lactatkonzentration (---- Fleisch, —— Saft)

Bewertung und dem D-Lactat-Spiegel der entsprechenden Proben. In Ergänzung des Befundes sollten die Art der durch das Prüferteam registrierten Geruchs- und Geschmacksabweichungen geschildert werden. Zunächst dominierten die Urteile "säuerlich, sauer", die im weiteren Verlauf in "stark sauer, beißig" übergingen.

Vers. II zeigte insoweit abweichende Ergebnisse, als hierbei die Phase einer offensichtlichen Säuerung nicht auftrat. Vielmehr wurde eine "fischige" Komponente ab der 4. Woche registriert, die unmittelbar in die Beurteilung "faul" überging. Zweimal, in Vers. I und IV, erfolgte die Anmerkung "nach Leber". Vers. IV ergab darüber hinaus, daß nach der 10. Lagerwoche auch bei den als Kontrolle fungierenden, gefriergelagerten Proben Abweichungen in Richtung "Altgeschmack" festgestellt wurden.

3.3.4.3 Geruch, Farbe, Aufrötung der vakuumgelagerten Proben

30 Minuten nach dem Öffnen der Verpackung wurden Geruch, Farbe und Aufrötekapazität der Proben beurteilt.
Bei allen vier Versuchen wiesen die Proben anfänglich einen angenehmen, milchsauren Geruch auf, der bei Vers. I und III nach 5 Wochen, bei Vers. IV nach 6 Wochen in einen säuerlichen bis deutlich sauren Geruch überging. Bei Vers. II erfolgte der Umschlag von milchsauer in einen muffigen Geruch zwischen 3. und 4. Woche, der in der 5. Woche bereits als muffig-faulig beschrieben wurde. Hingegen konnte dieser muffig-faulige Geruch bei den Proben der Vers. I,III und IV jeweils erst in der 8. Woche bzw. 13. Lagerwoche in der Packung festgestellt werden.

Nach dem Öffnen wiesen die Proben der Vers. I,III und IV eine dunkelrotbraune Farbe der Muskulatur auf, die Proben des Vers. II zeigten durchweg eine dunkel-braunrote Tönung. Von der 10. Woche an hatten die Proben des Vers. IV eine auffällig helle, grau-rotbraune Oberflächenfarbe. Die Aufrötung, d.h. die Ausbildung einer typisch roten, frischfleisch-

ähnlichen Muskelfarbe, erfolgte bei Vers. I,III und IV bis zur 6. Woche. Später kam es nicht mehr zur vollständigen Aufrötung, es zeigte sich dann lediglich eine blasse, hellrote Farbe. Bei Vers. II erfolgte von der 4. Woche an kein vollständiges Aufröten, die Proben veränderten ihre dunkelrote Farbe nicht mehr.

In allen Packungen traten mit zunehmender Lagerdauer zum Teil erhebliche Mengen an Fleischsaft aus. Vers. IV erbrachte hier mit maximal 11 ml den höchsten Wert, die Proben von Vers. II zeichneten sich über den gesamten Versuchszeitraum durch die niedrigsten Werte aus. Die im vorliegenden Modellversuch erhaltenen Saftverlust-Werte sind für die Situation in den praxisüblichen Reifepackungen wegen des dort günstigeren Volumen/Schnittflächen-Verhältnisses nicht repräsentativ. Auf eine gesonderte Erfassung und Bewertung dieses Parameters wurde deshalb verzichtet.

3.3.4.4 Haltbarkeitsreserve bei aerober Lagerung

3.3.4.4.1 Geruch, Farbhaltung, Oberflächen-pH-Wert

Der Zeitpunkt des Auftretens von Farb- und Geruchsabweichungen und damit die aerobe Lagerfähigkeit (Haltbarkeitsreserve) variierte für die bei +7 °C aufbewahrten Proben innerhalb der einzelnen Versuche deutlich. Während das Fleisch der Vers. I und III nach 8 Wochen Vakuumlagerung eine Verkaufs- bzw. Angebotsfähigkeit von maximal 1 Tag besaß, war dies bei Vers. II schon nach 3 Wochen und bei Vers. IV nach 7 Wochen der Fall. Bei allen Versuchen bildete das Auftreten von Farbabweichungen den limitierenden Faktor mit Ausnahme von Vers. II, wo sich Farb- und Geruchsabweichungen nahezu gleichzeitig einstellten. Der organoleptisch faßbare Verderb wurde bei Vers. II und IV als "muffig-süßlich" und bei Vers. I und III als "sauer-stechend" beschrieben. Die Farbabweichungen äußerten sich überwiegend in der Ausbildung von blassen, zum Teil grauen Oberflächen bei Vers. I,III und IV. Zusätzlich entwickelten sich bei Vers. II grünliche Bezirke.

3.3.5 Beziehung Variabler untereinander

3.3.5.1 SPEARMAN'scher Rangkorrelationskoeffizient r_s

Tab. 12 zeigt die Beziehung relevanter mikrobiologischer, sensorischer und chemisch-enzymatischer Parameter untereinander. Als Maß des Zusammenhanges wurde der SPEARMAN'sche Rangkorrelationskoeffizient berechnet. Dabei ist zu berücksichtigen, daß bei Versuchen mit beschleunigtem Verderb die beiden Variablen bereits nach kurzer Zeit Maximalwerte erreichen können. In diesem Fall lassen sich Zusammenhänge zwischen den einzelnen Variablen nicht mehr nachweisen. Die Werte in Tab. 12 sind daher nur mit dieser Einschränkung zu interpretieren, d.h. niedrige Korrelationskoeffizienten deuten nicht unbedingt darauf hin, daß keine Zusammenhänge bestehen.
Korrelationskoeffizienten, die sich signifikant unterscheiden ($\alpha = 0{,}05$), wurden mit einem Stern gekennzeichnet. Diese Ergebnisse sind nicht als statistischer Test zu interpretieren, sondern als beschreibendes Kriterium, um zu beurteilen, welche Zusammenhänge von Bedeutung sein könnten.

Die Parameter sind in den senkrechten Spalten der Tabellen nach der Häufigkeit signifikanter Korrelationen geordnet. Im oberen Teil findet sich das Ergebnis der sensorischen Prüfung, ausgedrückt als Sensorikpunkte jeweils gegen D-Lactat, Keimgruppen und pH-Wert aufgetragen. Es zeigte sich, daß die sensorische Bewertung am stärksten mit dem D-Lactat-Gehalt korrelierte, darauf folgten Enterobakteriazeen und Pseudomonaden (4 °C). Die Laktobazillen als stärkste Milchsäurebildner rangierten erst an vierter Stelle. Die klassischen Parameter, wie Gesamtkeimzahl (30 °C u. 4 °C) sowie pH-Wert, korrelierten weit weniger deutlich mit dem sensorischen Ergebnis als die vorhergenannten Merkmale. Weiterhin läßt sich erkennen, daß die Fleischsaft-Ergebnisse seltener mit dem Sensorik-Befund korrelieren als die Muskelfleisch-Werte.

		Versuch I		Versuch II		Versuch III		Versuch IV	
		Fleisch/Saft		Fleisch/Saft		Fleisch/Saft		Fleisch/Saft	
Sensorikpunkte	D-Lactat	.90*	.71*	.94*	.78*	.84*	.92*	.92*	.91*
	Enterobakteriazeen	.80*	.78*	.69*	.60*	.71*	.47*	.61*	.21
	Pseudomonaden 4°	.48	.75*	.75*	.47	.83*	.80*	.63*	.04
	Laktobazillen	.55*	.43	.81*	.50	.43	.02	.79*	.57*
	Gesamtkeimzahl 30°	.76*	.01	.59*	.23	.19	.04	.73*	.38
	pH-Wert	-.77*	-.45	-.22	-.08	-.68*	-.67*	.23	.26
	Pseudomonaden 22°	.71*	.41	.51	.06	.78*	.53	.37	.07
	Gesamtkeimzahl 4°	.48	-.05	.43	-.26	.18	-.06	.57*	.09
	Brochothrix therm.	-.22	-.32	.33	-.47	.41	.38	.72*	.13
D-Lactat	Laktobazillen	.16	.78*	.88*	.43	.53*	.14	.74*	.68*
	Pseudomonaden 4°	.19	.45	.63*	.63*	.77*	.77*	.73*	-.29
	Pseudomonaden 22°	.63*	.44	.27	-.20	.75*	.60*	.69*	-.25
	Enterobakteriazeen	.73*	.63*	.33	.25	.78*	.66*	.41	.25
	aerobe Haltbarkeit	-.80*	-.67*	-.45	-.21	-.55*	-.58*	.13	.09
	pH-Wert	-.74*	-.67*	-.29	-.42	-.73*	-.86*	-.04	.12
	Brochothrix therm.	-.25	-.39	-.04	-.80*	.12	-.23	-.56*	.04
	Gesamtkeimzahl 30°	.47	.04	.35	.05	.12	.15	.55*	.37
	Gesamtkeimzahl 4°	-.02	.43	.28	-.28	.12	.08	.09	.21

I-III Fleisch = 11 n IV Fleisch = 15 *die Korrelation unterscheidet
I-III Saft = 10 n IV Saft = 14 sich mit $\alpha = 0,05$ von Null

belle 12: SPEARMAN'sche Rangkorrelationskoeffizienten zwischen ausgewählten Parametern

Der untere Teil der Tabelle soll veranschaulichen, welche Parameter zu der Milchsäurekonzentration am stärksten in Beziehung stehen. Entsprechend ihrer Stoffwechselqualität zeigten die Laktobazillen die höchste Korrelation, gefolgt von Pseudomonaden (4 °C u. 22 °C) und Enterobakteriazeen. Auch hier hatten Gesamtkeimzahl (30 °C u. 4 °C) und pH-Wert nur mäßige Indikatoreigenschaften.

3.3.5.2 Produkt-Moment-Korrelationskoeffizient

Tab. 13 enthält die Produkt-Moment-Korrelationskoeffizienten unter Annahme einer linearen Abhängigkeit für die einzelnen Hygieneparameter, wobei die Werte des Fleisches denen des Fleischsaftes gegenübergestellt wurden. Hieraus soll sich die Information ergeben, inwieweit die Beschaffenheit des Fleischsaftes den Zustand des Fleisches widerspiegelt. Für die meisten Parameter ergab sich eine signifikante, numerisch zum Teil recht hohe Korrelation, welche die höchsten Werte für Laktobazillen und D-Lactat aufwies.

Versuch	I	II	III	IV
D-Lactat	.88*	.82*	.94*	.90*
Laktobazillen	.97*	.79*	.95*	.94*
Enterobakteriazeen	.78*	.80*	.64*	.83*
Pseudomonaden 22°	.71*	.85*	.79*	.58*
Pseudomonaden 4°	.59	.78*	.66*	.69*
Gesamtkeimzahl 30°	.79*	.32	.68*	.94*
Gesamtkeimzahl 4°	.80*	.20	.65*	.96*
pH-Wert	.74*	.34	.85*	.56*
Brochothrix therm.	.45	-.29	.04	.85*

* die Korrelation unterscheidet sich mit $\alpha = 0{,}05$ von Null

Tabelle 13: Produkt-Moment-Korrelationskoeffizient Fleisch/Saft

4. DISKUSSION

4.1 Die Qualitätskriterien und ihr Verhalten untereinander

4.1.1 Keimstatus

Der Frischezustand und damit verbunden auch die Lagerfähigkeit von vakuumverpacktem Frischfleisch wird im wesentlichen von der enzymatischen Aktivität der vorhandenen Kontaminationsflora beeinflußt. Darüber hinaus besteht eine Abhängigkeit zur Lagertemperatur, wobei Werte um 0 °C das Optimum darstellen.

Bei allen Versuchsreihen bildete sich mit fortschreitender Lagerdauer eine dominierende Laktobazillenflora aus, was mit allen aus der Literatur bekannten Ergebnissen übereinstimmt.
In den Vers. I-III war dies Stadium spätestens nach 3 Wochen Vakuumlagerung erreicht, bei Vers. IV aber erst nach 8 Wochen. Die hohe Wasseraktivität und die ausreichend vorhandenen Nährstoffe ließen bereits nach 3 - 4 Wochen das Erreichen einer Keimdichte um $10^7/cm^2$ zu. Allerdings muß bei der Interpretation der Laktobazillenzahlen berücksichtigt werden, daß für die graphischen Darstellungen jeweils die auf dem LS-Medium ermittelten Werte dienten. Die Ergebnisse auf dem weniger selektiven La-Medium sind lediglich in den Tabellen aufgeführt und liegen mit Ausnahme von Vers. IV meist in der Größenordnung der Gesamtkeimzahl und damit etwa um den Faktor 10 höher als die Keimzahlen auf dem LS-Medium. Die Ursache für die verminderte Keimausbeute dürfte in der Hemmung empfindlicher atypischer Streptobakterien liegen, die in Untersuchungen von REUTER (1970b) auf frischem Fleisch überwogen.

In den ersten Lagerwochen konkurrierten lediglich Brochothrix thermosphacta (HANNA et al. 1977) und bei Vers. IV die Enterobakteriazeen im Wachstum mit den Laktobazillen. Auf Fleisch mit DFD-Charakter schien Brochothrix thermosphacta gegenüber Fleisch mit normalem pH-Wert einen Wachstumsvor-

teil zu besitzen (Vers. II, Abb. 6a/b). Entgegen den Angaben von ERICHSEN et al. (1981) und SHERIDAN (1982) verhielten sich auch die Laktobazillen auf DFD-Fleisch nicht anders als auf "Normalfleisch".

Die Enterobakteriazeen zeichneten sich bei geringer Anfangskontamination durch ein langsames Anwachsen auf Werte von ca. 10^4 - $10^5/cm^2$ aus. Zum Ende der 10-wöchigen Lagerzeit war eine schwache Tendenz zu einem weiteren Anstieg erkennbar. Bei Vers. IV hingegen begünstigte die verzögerte Vermehrungsrate der Laktobazillen das Enterobakteriazeen-Wachstum, wobei diese Keimgruppe Maximalwerte von $10^6/cm^2$ erreichte und gleichzeitig gegenüber den anderen Versuchen auch wesentlich schneller anstieg. Dieser Befund bestätigt die Feststellung von REUTER (1972), daß eine positive Wirkung von Laktobazillen nur dann zu erwarten ist, wenn die Ausgangskontaminationen mit hygienisch bedenklichen Begleitkeimen, insbesondere Enterobakteriazeen, zahlenmäßig unter denen der Laktobazillen liegen. Diese Aussage wurde unter anderem durch die Untersuchungen von RACCACH u. BAKER (1978,1979) und RACCACH et al. (1979) an mechanisch entbeintem Geflügelfleisch, dem Laktobazillenkulturen zur Haltbarkeitsverlängerung zugesetzt wurden, unterstützt.
Die Werte für Pseudomonaden lagen auf der Fleischoberfläche deutlich niedriger als nach der zugänglichen Literatur zu erwarten stand. Dieses Phänomen kann zumindest teilweise methodologisch begründet sein und auf die hohe Selektivität des verwendeten GSP-Nährmediums nach KIELWEIN (1969) zurückgehen, denn der parallel eingesetzte CFC-Agar nach MEAD u. ADAMS (1977) erbrachte eine deutlich höhere Keimausbeute. Graphisch dargestellt wurden aber nur die auf dem GSP-Medium ermittelten Keimzahlen, denn dieser Nährboden wird routinemäßig im Institut eingesetzt und es besteht folglich in der Zubereitung und Auswertung die größere Erfahrung. Darüber hinaus ließen sich auf diesem Medium Aeromonaden anhand der Kolonie-Morphologie eindeutig von den Pseudomonaden abgrenzen. Sie machten im Vers. II (DFD) immerhin bis zu 90 % der Pseudomonadenflora aus. Dieser Befund deckt sich mit den Beobachtungen von HERMANSEN (1980).

Eine Erklärung für das schnelle Wachstum und die höheren Keimzahlen der Pseudomonaden im Fleischsaft mag die extreme Abhängigkeit des Pseudomonadenwachstums von hohen a_w-Werten sein. Für das Wachstum von Mikroorganismen verfügbares freies Wasser steht im Fleischsaft in höherem Anteil zur Verfügung als auf der Fleischoberfläche. Auf dieser tritt darüber hinaus durch die Vermehrung der Keime bedingt, eine zunehmende Verarmung an Nährstoffen ein, die zu einer Verminderung der Wachstumsrate beiträgt (GILL 1976). Gegen die a_w-Wert-Theorie spricht die Tatsache, daß in einer hermetisch verschlossenen Packung nur eine Gleichgewichtsfeuchte herrschen kann.

Die restlichen Keimgruppen, nämlich Coliforme, Hefen, Mikrokokken, blieben an ihrem zahlenmäßigen Anteil gemessen ohne größeren Einfluß auf das Verderbsgeschehen. Staphylococcus aureus wurde nie nachgewiesen. Gegenüber den Vers. I-III zeigt Vers. IV für Coliforme, Hefen, Mikrokokken und auch Pseudomonaden nicht sehr stetige Kurvenverläufe. Als Ursache kommt eine mangelnde Standardisierung des Ausgangsmaterials in Betracht. Bei der "sterilen" Behandlung des zu verpackenden Fleisches brachte die nicht vollständig auszuschließende zufällige Kontamination einzelner Packungen innerhalb des Versuches Keime ein, deren Vermehrung zu dem beobachteten Mangel an Übereinstimmung führte.

Bei der Betrachtung der Wachstumskurven für alle erfaßten Keimgruppen im Fleischsaft fällt der gegenüber der Fleischoberfläche gleichmäßigere Kurvenverlauf auf. Dieser steht mit der homogenen Keimbesiedelung des flüssigen Mediums in Zusammenhang, weshalb sich dies Substrat für Verlaufskontrollen bei vakuumverpacktem Fleisch besser eignet als Proben von der Fleischoberfläche. Des weiteren zeigt sich, daß die Mengenanteile der einzelnen Florakomponenten denen auf der Fleischoberfläche ähneln, wobei die Fleischsaftwerte im Durchschnitt 1,5 bis 2 Log-Einheiten über denen der Fleischoberfläche liegen. Ähnliche Ergebnisse führen auch de ZUTTER u. van HOOF (1982) an. Der Umstand unterstützt die Forderung nach einer Reduzierung des Flüssigkeitsaustritts bei Vakuumpackungen (TÄNDLER et al. 1982) bzw. den Versuch, Fleischsaft an entsprechende Einlagen in die Packung zu binden (TÄNDLER 1982).

4.1.2 Sensorik

Mit der sensorischen Prüfung wurde versucht, den Begriff einer "nicht unerheblichen Minderung des Genußwertes" im Sinne von § 17 (1) 2b direkt zu erfassen und mit dem bakteriologischen und biochemischen Befund in Beziehung zu setzen.
Den Nachweis des Tatbestandes "nicht unerheblich im Genußwert gemindert" vermag ein einzelner Prüfer insbesondere in forensischen Fällen nicht mit ausreichender Sicherheit zu führen, weil Prüferdisposition und andere subjektive Faktoren das Urteil zu stark beeinflußen können. So weisen auch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit auf die Bedeutung der individuellen Verfassung hin; denn immer wieder waren Unterschiede bei der Beurteilung ein und derselben Probe durch mehrere geschulte Prüfer zu verzeichnen. Auch der Einfluß einer nicht immer auszuschaltenden Erwartungshaltung spielt sicher eine Rolle. Subjektivität und Zufall sollten durch die Anwendung einer Dreiecksprüfung mit 4 Prüfern in Anlehnung an die Deutsche Norm nach DIN 10 951 weitgehend ausgeschlossen werden. Es war das Ziel dieser Prüfung, über die alternative Fragestellung "Unterschied ja/nein" hinaus den Zeitpunkt zu ermitteln, an dem die Proben ihre Verkaufs- bzw. Verkehrsfähigkeit wegen eingetretenen Verderbs verlieren. Statistisch gesehen handelte es sich somit um einen einseitigen Test mit der Ratewahrscheinlichkeit $p = 1/6$.

Trotz der Schwierigkeit, bei frischem Fleisch zwischen notwendiger Reifung und beginnendem Verderb zu unterscheiden, gelang es mit dem gewählten Testverfahren, ausreichend abgesicherte und reproduzierbare Aussagen zu erhalten.
Die Unterschiedsprüfung ergab in den Vers. I-III nach 3 bzw. 4 Wochen übereinstimmende Urteile, die im weiteren Verlauf konstant blieben.
Bei Vers. IV fanden die Prüfer bereits zu Beginn eindeutige Unterschiede, die jedoch in der 6. und 7. Woche wieder verschwanden (Abb. 14). Eine einleuchtende Erklärung hierfür fällt schwer. Sie könnte in der Problematik dieses Tests, der nicht nur einen Unterschied, sondern auch seine Richtung berücksichtigt, begründet sein. Zu Beginn des Versuchszeitraumes

ordneten die Prüfer die Proben oft falsch zu, wobei reale Unterschiede vorhanden waren und auch erkannt wurden. Die kühlgelagerten Proben "reiften" jedoch in den ersten Wochen und bildeten ein typisches Fleischaroma aus - im Gegensatz zu den frisch eingefrorenen und damit "flach" schmeckenden Kontrollproben. Jede falsche Zuordnung der abweichenden (positiv oder negativ differierenden) Probe führt nach der Anlage des Tests jedoch zur Nichtberücksichtigung der Antwort bei der Unterschiedsprüfung. Diese Situation müßte zu Beginn der Fleischlagerung bei den Vers. I-III bestanden haben, während sich bei Vers. IV ein anderes sensorisches Profil ergab. Oft wurden hier gleich zu Beginn der Prüfung Unterschiede sowohl erkannt als auch richtig zugeordnet, doch kam es immer wieder zu Fehlentscheidungen. Dieser Befund deutet darauf hin, daß sich der Reifungs- und Verderbsablauf von den übrigen Versuchen unterschied. Die Erwartungshaltung der Prüfer geht für gereiftes Fleisch erfahrungsgemäß in Richtung einer milchsäuerlichen Geschmackskomponente. Wegen des Fehlens der Milchsäurebildner in den ersten Wochen erfüllte sich eine solche Vorstellung aber nicht, vielmehr dürften in diesem Zeitraum proteolytische Vorgänge im Vordergrund gestanden haben, die anfänglich noch nicht zu merklichen Verderbszeichen führten. Erst mit steigendem Lactatgehalt wurden mit hoher Sicherheit solche Zeichen erkannt und angesprochen, was sich auch in einem Ansteigen der Säulenhöhe in der bewerteten Intensitätsprüfung äußert. Hier zeigen die Diagramme der Vers. I-III einen gleichmäßigen, mit dem D-Lactatspiegel in guter Übereinstimmung stehenden Anstieg (Abb. 11 - 13).

Die entsprechende Punktzahl, die einen eindeutigen Verderb charakterisiert (8), wurde demnach frühestens nach 5 Wochen (Vers. II) bzw. 6 Wochen (Vers. I,III) erreicht. Damit werden die in der Literatur angegebenen Fristen für die maximale Haltbarkeit zum Teil erheblich übertroffen. Eine Qualitätsminderung tritt allerdings innerhalb dieser Versuche erheblich früher ein. Bemerkenswert ist die Tatsache, daß bei Vers. IV zwar ab der 8. Woche ein merklicher Qualitätsabfall registriert wurde, jedoch erst in der 12. Woche die Bewertung auf 8 Punkte anstieg.

Im direkten Vergleich aller Versuche läßt sich offenbar eine Verlängerung der Haltbarkeit durch "sterile" Probennahme und Verpackung - wie in Vers. IV - um etwa das Doppelte (12 statt 6 Wochen) erzielen.

Bei der Betrachtung der Korrelationen zwischen den sensorischen, mikrobiologischen und chemischen Analysen bestanden statistisch abgesicherte, paarweise Beziehungen zwischen den Merkmalen Sensorik/D-Lactat/Enterobakteriazeen, Pseudomonaden und Laktobazillen (Tab. 12).
Die höchste Korrelation für die Sensorik bestand erwartungsgemäß zum D-Lactat mit r_s = 0,80, was eine Bestätigung der Arbeiten von LUKE (1978) und SCHNEIDER (1982) bildet. Innerhalb ausgewählter Parameter korrelierten D-Lactat und Keimdichte der Laktobazillen am besten untereinander.

Auffällig ist die schwach ausgeprägte Beziehung der Wasserstoffionenkonzentration zum sensorischen Befund und zum Gehalt an D-Lactat. Diese Tatsache ist bereits von HOFMANN (1968) und anderen Autoren erwähnt worden, die dem pH-Wert aufgrund der starken Pufferkapazität des Fleischeiweißes die Eignung als Verderbs-Indikator absprachen. Die pH-Werte an der Fleischoberfläche sanken bei Vers. I und III lediglich um maximal 0,3 Einheiten ab, im Saft bei Vers. III um 0,5 Einheiten. Demgegenüber ließ sich bei Vers. II und IV ein Anstieg im Verlauf der Lagerung feststellen. Er dürfte aus der geringeren Kohlenhydratreserve und der dadurch schwächeren Säuerung resultiert haben, die außerdem noch durch die gleichzeitig ablaufenden proteolytischen Vorgänge abgeschwächt wurde.

4.1.3 D-Lactat

Von den beiden Isomeren der Milchsäure, D- und L-Lactat, kann nur das D-Lactat als Maß für die mikrobielle Stoffwechselaktivität herangezogen werden, da L-Lactat im lebenden Organismus und post mortem im Fleisch im Verlauf glykolytischer Prozesse gebildet wird. Aus diesem Grund eignet sich auch die Gesamtmilchsäurekonzentration mit ihrem stark differierenden L-Lactat-Ausgangsspiegel nicht als Parameter für den Grad der

mikrobiellen Belastung. D-Lactat hingegen entsteht ausschließlich durch den Stoffwechsel der glykolytischen Keimflora und akkumuliert als Endprodukt des bakteriellen Kohlenhydratstoffwechsels. Wegen dieser kausalen Beziehung zeigte die D-Milchsäure in Abhängigkeit von der Lagerdauer und dem Ausgangsmaterial einen einheitlichen Anstieg, der nach Erreichen der Grenze der Verzehrsfähigkeit nicht stagnierte, sondern abflachte, um dann in ein Plateau überzugehen.

Weil in erster Linie Kohlenhydrate als Quelle der Lactatbildung dienen, wird die geringere D-Milchsäurekonzentration bei Fleisch mit hohem pH-Wert (um 6,0) verständlich. Hier sind die Kohlenhydratreserven bereits vor der Schlachtung stark reduziert und limitieren demzufolge die entstehende Milchsäuremenge. Ein solcher Mechanismus zeigt sich für den Verlauf der Lactatentwicklung im Fleisch bei Vers. II. Obwohl sich die Anzahl Laktobazillen, die hauptsächlich für die Milchsäurebildung verantwortlich sind, nicht von Vers. I und III unterschied, nahm die D-Lactatmenge nur gering zu, was auf die Fähigkeit zur Stoffwechselumstellung und die Verwertung anderer Nährstoffe als Kohlenhydrate hinweist.

Eine weitere Ursache für niedrige D-Lactatspiegel illustriert Vers. IV. Hier ist die geringe und verzögerte Milchsäurebildung unmittelbar auf das Fehlen einer ausreichenden Laktobazillenbesiedelung zurückzuführen. Erst nach dem verzögerten Anstieg auf eine Dichte von ca. $10^6/cm^2$ nahm die Milchsäurekonzentration zu. Es wurden jedoch geringere Endwerte als bei Vers. I und III erreicht. Hierfür könnte der gegenüber Vers. I und III höhere Ausgangs-pH-Wert verantwortlich sein. Auf jeden Fall muß eine Mindestpopulation von 10^6 - $10^7/cm^2$ erreicht sein, ehe eine nennenswerte D-Lactatbildung erfolgt.

Die Verlaufskurven für D-Lactat im Fleischsaft gleichen denen auf der Fleischoberfläche, jedoch zeigen sie einen erheblich schnelleren Anstieg des D-Lactats in Verbindung mit höheren Konzentrationen, was sich mit einer leichteren Verfügbarkeit der verwertbaren Kohlenhydrate bzw.

anderer Nährstoffe erklären läßt. Im flüssigen Medium ist kein Diffusionsgefälle zu überwinden, und die Nährstoffe stehen praktisch ohne Verzögerung zur Verfügung. Die unerwartet geringen Lactat-Konzentrationen bei Vers. II zwischen 4./5. und 6./7. Woche im Fleischsaft und 8./9. Woche auf der Fleischoberfläche sind wahrscheinlich auf die Inhomogenität des Versuchsmaterials zurückzuführen, zumal die Laktobazillenflora keine derartigen Einbrüche aufweist.

Bei Würdigung aller Ergebnisse wird die Forderung von SINELL (1982), einen analytisch faßbaren Parameter der mikrobiellen Stoffwechselaktivität zu finden, der die durch Produktstreuung und systematische Fehler der kulturellen Keimzahlbestimmung bedingten Unsicherheiten ausschließt, durch das D-Lactat weitgehend erfüllt. Gleichfalls erfüllt D-Lactat die in der Literatur geforderten Merkmale für die Eignung eines mikrobiellen Stoffwechselproduktes (BAUMGART et al. 1977, FIELDS et al. 1968) als Indikator der mikrobiellen Stabilität:

- Abwesenheit in frischen Lebensmitteln
- Konzentrationsanstieg mit zunehmendem Verderb
- Bildung durch die dominierende Verderbsflora.

Damit werden auch die Ergebnisse von LUKE (1978), SCHNEIDER (1982) sowie WIEGNER u. HILDEBRANDT (1982) durch die vorliegende Arbeit bestätigt. Insbesondere der stetige Anstieg dieses Stoffwechselproduktes mit fortdauernder Lagerung und seine Abhängigkeit von der Aufbewahrungstemperatur (SCHNEIDER 1982) stellt den entscheidenden Vorteil gegenüber der konventionellen Keimzahlbestimmung dar. In Abhängigkeit von der Temperatur läßt die Bakteriendichte nur in den ersten Tagen oder Wochen eine Entwicklungsdynamik erkennen, die relativ rasch in eine stationäre Phase übergeht. Nach Erreichen dieses Plateaus erlaubt die alleinige Keimzahlbestimmung keine Aussage über die "Historie" bzw. die Haltbarkeitsreserve des Lebensmittels. Lediglich in Verbindung mit der sensorischen Prüfung ist eine derartige Aussage möglich.

Als alleiniges Kriterium zur Beurteilung des Frischezustandes von Fleisch eignet sich allerdings D-Lactat nicht. WIEGNER u. HILDEBRANDT (1982) hielten D-Lactat vielmehr für einen Parameter, der sich zur Präzisierung des mikrobiologischen Befundes anbietet. Insbesondere die Abhängigkeit der Lactatentwicklung vom Ausgangs-pH-Wert (s. Vers. II) führt zu der Schlußfolgerung, daß auf die herkömmlichen Methoden nicht verzichtet werden kann, da im Interesse eines gesicherten Urteils möglichst viel Information verwendet werden sollte. Deshalb ist eine relativ schnelle und einfache Methode, wie der enzymatische Nachweis von D-Lactat, durchaus zu empfehlen. Richtwerte für die D-Lactat-Konzentration stehen allerdings nicht zur Verfügung und sind auch bei der biologischen Inhomogenität des Rohstoffes "Fleisch" nicht zu erwarten. Die D-Lactat-Konzentration muß deshalb - wie die vorliegenden Untersuchungen zeigen - stets im Zusammenhang mit den anderen Frischeparametern gesehen werden.

4.2 Zusammenhänge zwischen Fleisch und Fleischsaft

Tab. 13 weist eine enge Korrelation für D-Lactat, Laktobazillen und Enterobakteriazeen in beiden Substraten auf. Diese Tatsache läßt den Schluß zu, daß von einer Parameterbestimmung im Fleischsaft - entweder kontinuierlich (WIEGNER u. HILDEBRANDT 1982) oder als Einzelstichprobe - durchaus auf den Zustand des Fleisches geschlossen werden kann. Hier sind allerdings weiterführende Arbeiten notwendig, um die Zusammenhänge abzusichern und ggf. Umrechnungsfaktoren festzulegen.
Die Analyse des Fleischsaftes würde sowohl die biochemische als auch in geringerem Maße die bakteriologische Untersuchung beschleunigen, da ein Teil der zeitaufwendigen Probenaufbereitung entfällt. Die Abb. 11 - 14 veranschaulichen, daß insbesondere D-Lactat eine annähernd parallele Entwicklung in Fleisch und Fleischsaft aufweist und daher der Milchsäuregehalt im Fleischsaft sich durchaus als Leitkriterium eignet.

4.3 Haltbarkeitsreserve

Innerhalb der vier Versuchsreihen bestanden deutliche Unterschiede bei der aeroben Aufbewahrung, die sich an die Vakuumlagerung anschloß. Hierbei zeigten insbesondere die Proben des Vers. II ihre schlechtere Eignung zur Vakuumverpackung. Nach 3-wöchiger Lagerung war ihre Haltbarkeitsreserve aufgebraucht, weshalb sich eine anschließende aerobe Lagerung (Angebotslagerung) verbot. Das gleichzeitige Auftreten von Farb- und Geruchsabweichungen hätte selbst eine sofortige Weiterverwendung, z.B. im Gastronomiebereich, unmöglich gemacht. Im Gegensatz hierzu entwickelten die Proben der restlichen Versuche zuerst Farb- und dann Geruchsabweichungen. Hieraus läßt sich ableiten, daß die Bevorratung von Frischfleisch in Vakuumpackungen insbesondere auf dem Sektor der Großküchen und Restaurantbetriebe Vorteile bietet, da hier die verkaufsfördernde Farbe bzw. die Farbstabilität keine ausschlaggebende Rolle spielt.

4.4 Rohmaterialbezogene Unterschiede

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bestätigen die Auffassung vieler Autoren über die mangelnde Eignung von Rindfleisch mit DFD-Eigenschaften zur längerfristigen Vakuumlagerung. Gegenüber Muskulatur mit normalem pH-Wert ist DFD-Material maximal nur halb so lange lagerfähig. Wenngleich die in der Literatur beschriebenen gravierenden Unterschiede in der Florazusammensetzung nicht gefunden werden konnten, so zeigte sich doch eine Tendenz zur Verschiebung des Keimprofils. So wuchsen Brochothrix thermosphacta bzw. Enterobakteriazeen/Coliforme auf DFD-Fleisch besser an und erreichten höhere Endkeimzahlen. Wegen fehlender Kohlenhydratreserven und der daraus resultierenden schwächeren Säuerung traten proteolytische Vorgänge wesentlich früher in den Vordergrund als bei "Normalfleisch" und führten bei der sensorischen Prüfung entsprechend schneller zur Abwertung. Rindfleisch mit DFD-Charakter sollte - wenn überhaupt - maximal 2 Wochen vakuumverpackt gelagert werden.

Die "sterile" Verpackung der Proben des Vers. IV bewirkte trotz der ausgeprägten Entwicklung sogenannter Verderbskeime, wie Enterobakteriazeen, Pseudomonaden und Brochothrix thermosphacta, eine deutliche Verlängerung der Lagerzeit. Aus diesem Befund läßt sich ableiten, daß entsprechend der Behauptung von GRAU (1979) ein merklicher Qualitätsabfall in Form von Geruchs- und Geschmacksabweichungen erst dann auftritt, wenn sich die Gesamtkeimzahl stabilisiert hat. Auf etwa 3 Wochen nach Erreichen eines konstanten Niveaus der Gesamtkeimzahl ist die maximale Haltbarkeit von Rindfleisch begrenzt, wie die vorliegenden Ergebnisse zeigen. Diese Angabe gilt jedoch nur für die angegebenen Versuchsbedingungen. In der Praxis werden für gewöhnlich größere Teilstücke verpackt, bei denen das Oberflächen/Volumenverhältnis wesentlich günstiger liegt als bei der im Versuch verwendeten Scheibenware.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, das Verderbsgeschehen von vakuumverpacktem Rindfleisch im Verlauf der Lagerung bei +2 °C möglichst objektiv zu charakterisieren. Bei den vier Zeitreihenuntersuchungen variierten die Verpackungsbedingungen (konventionell/"steril") bzw. der pH-Wert des Fleisches (normal/DFD).
Der sensorische Befund (Triangel-Test) diente als Leitkriterium, welches zum bakteriologischen Status sowie der D(-)-Lactat-Konzentration in Beziehung gesetzt wurde.

Die Untersuchungsergebnisse führten zu folgenden Feststellungen:

1. Bei einer Lagerungstemperatur von +2 °C stieg die Gesamtkeimzahl an der Fleischoberfläche bis zu einem Plateau von etwa 10^8 Keimen/cm^2 an. Dieser Wert stellte sich bei besonders keimarm verpacktem Fleisch erst nach 8 Wochen ein.

2. Im Verlauf der Kühllagerung entwickelten sich unabhängig vom Ausgangs-pH-Wert die Laktobazillen stets zum dominierenden Floraanteil. Mit dem Wachstum dieser Keimgruppe stand, in Abhängigkeit von der Lagerzeit, die Anhäufung von D(-)-Lactat in enger Beziehung. D(-)-Lactat bildet hier ein brauchbares Kriterium für die Beurteilung des Frischezustandes.

3. Bei DFD-Fleisch mit seinen geringen Kohlenhydratreserven ist die D(-)-Lactat-Konzentration als Parameter für die Beurteilung des Frischezustandes nicht brauchbar.

4. Der Laktobazillenflora schien in einer Frischfleischpackung ein protektiver Effekt zuzukommen. Geringe Initialkontaminationen mit Laktobazillen begünstigen ein rasches Wachstum von Enterobakteriazeen.

5. Der austretende Fleischsaft bot der Kontaminationsflora sehr günstige Entwicklungsbedingungen. Die Verwendung von saugfähigen Einlagen könnte positiven Einfluß auf die Haltbarkeit des Fleisches ausüben.

6. Die Ergebnisse der sensorischen Analyse sind mit der D(-)-Lactat-Konzentration wesentlich enger korreliert als mit den Daten der mikrobiologisch-kulturellen Untersuchung.

Die Überprüfung des Frischezustandes vakuumverpackten Frischfleisches mittels einer anerkannten Sensorikprüfmethode, wie dem Triangel-Test, reichte aus, um mit der erforderlichen Sicherheit eine Qualitätseinstufung vorzunehmen. Derartige Tests sind insbesondere bei der Feststellung einer "Minderung des Genußwertes" (§ 17 Abs. 1, Nr. 2b LMBG) hilfreich. Allerdings lassen sie nur in geringem Maße einen Rückschluß auf die Haltbarkeitsreserve zu. Hier bietet sich die gleichzeitige Bestimmung des Stoffwechselparameters D(-)-Lactat in Verbindung mit der bakteriologisch-kulturellen Untersuchung an. Auf sie kann zum Nachweis der mikrobiologisch-hygienischen Unbedenklichkeit ohnehin nicht verzichtet werden.

6. SUMMARY

The attempt has been made in this study to objectively characterize the mechanism of microbial spoilage in vacuum-packaged beef stored at +2 °C. Four series of experiments were conducted under varying conditions of packaging (normal/"sterile") and pH-values of the meat (normal/DFD).
The results of the sensory test (triangle-test) were used as the guiding criterion for the evaluation of the freshness and compared with the bacteriological status and the concentration of D(-)-lactate.

The results of the examination led to the following conclusions:

1. At a storage temperature of +2 °C the total bacterial count of the meat surface rose to $10^8/cm^2$. Under conditions nearly free of contamination packaged meat reached this count only after 8 weeks.

2. During the period of cold-storage, lactobacilli always became the predominant part of the flora, regardless of the initial pH-value of the meat. The growth of these organisms was closely related to the accumulation of D(-)-lactate, depending on the duration of storage. Hence the concentration of D(-)-lactate can serve as a valuable parameter for freshness control.

3. The concentration of D(-)-lactate is of little value for the evaluation of the freshness of meat with low amounts of carbohydrates, such as DFD-meat.

4. Lactobacilli seemed to have a protective effect against the growth of Enterobacteriaceae in beef packaged under vacuum. The growth of Enterobacteriaceae was enhanced if there were only small numbers of lactobacilli.

5. Meat juice proved to be an excellent medium for the development of the contamination flora. The use of absorbent papers might have a positive effect on the quality of the meat.

6. The results of the sensory test stood in much closer correlation to the concentration of D(-)-lactate than to the results of the bacterial examination.

Application of a recognized sensory test, such as the triangle-test, allowed the assessment of the freshness of vacuum-packaged beef with sufficient reliability. Those tests proved particularly useful to assess a "reduction of eating-quality" as mentioned in the food law of the Federal Republic of Germany ("Minderung des Genußwertes", § 17 Abs. 1, Nr. 2b LMBG); however, little may be inferred on a prediction of the storability of the vacuum-packaged beef. The concentration of D(-)-lactate together with the results of the bacterial examination were more suitable for this purpose. Moreover, no assessment of the hygienic quality of meat can do without the determining of the microbiological profile.

7. LITERATURÜBERSICHT

ALLEN, J.R. und E.M. FOSTER (1960)
Spoilage of vacuum-packed sliced processed meats during refrigerated storage
Food Res. 25, 199

BAGGERMAN, W.I. (1979)
A modified rose bengal agar for the enumeration of yeasts and moulds in food
Antonie van Leeuwenhoek, J. Microbiol. Serol. 45, 325

BALTZER, J. (1969)
The relationship between bacterial contamination and growth on meats and the quality of meat products
Proc. Recip. Meat Conf. 22, 294

BAUMGART, J., M. SCHMIEDEL und TH. REINKE (1977)
Mikrobielle Stoffwechselprodukte als Indikator der Haltbarkeit von Feinkosterzeugnissen
Alimenta-Sonderausgabe, 51-55

BEEBE, S.D., C. VANDERZANT, M.O. HANNA, Z.L. CARPENTER und G.C. SMITH (1976)
Effect of initial internal temperature and storage temperature on the microbial flora of vacuum packaged beef
J. Milk Food Technol. 39, 600

BEM, Z., H. HECHELMANN und L. LEISTNER (1976)
Mikrobiologie des DFD-Fleisches
Fleischwirtschaft 56, 985

BENDALL, J.R. (1979)
Relations between muscle pH and important biochemical parameters during the postmortem changes in mammalian muscles
Meat Sci. 3, 143

BERGEMEYER, H.U. (1974)
Methoden der enzymatischen Analyse, Band I u. II, 3. Aufl.
Verlag Chemie, Weinheim/Bergstraße

BERRY, B.W. und A.W. KOTULA (1982)
Effects of electrical stimulation, temperature of boning and storage time on bacterial counts and shelf-life characteristics of beef cuts
J. Food Sci. 47, 852

BEYER, K. (1979)
Aerobe Mikroflora bei Kühllagerung vakuumverpackten Rindfleisches unter besonderer Berücksichtigung der Enterobacteriaceae
Vet. med. Diss., Berlin

BÖHME, C.F. (1978)
Frischfleisch-Portionspackungen nach dem Dr. Böhme Schutzgasverfahren
Zeitschr. Lebensmitteltechnol. Verfahrenstechn. 29, 182

BÖHME, C.F. (1981)
Die Reifung und Lagerung von Fleisch in Verbundfolienbeuteln, Teil I
Fleischerei 32, 786

BOEHRINGER-Mannheim (1979)
Methoden der enzymatischen Lebensmittelanalytik
Herausgeber: Boehringer Mannheim GmbH

BOHNSACK, U. und H.U. HÖPKE (1982)
Der Einfluß eines als Hi-Vac-Verpackung bezeichneten Verfahrens auf die Haltbarkeit von frischem Schweinefleisch
Fleischwirtschaft 62, 38

BRANEN, A.L. (1979)
Interactions of fat oxidation and microbial spoilage in muscle food
Proc. 31st Annu. Recipr. Meat Conf., 156

BREER, C. und W. RUOSCH (1978)
Der quantitative Nachweis von Enterobacteriaceen im Rahmen der bakteriologischen Betriebshygienekontrolle
Fleischwirtschaft 58, 337

BREER, C., E. HESS und W. RUOSCH (1980)
The shelf-life of vacuum-packaged fresh meat
Proc. Europ. Meet. Meat Res. Workers 26, 304

BRISKEY, E.J., R.G. CASSENS und J.C. TRAUTMANN (1966)
The physiology and biochemistry of muscle as a food
The University of Wisconsin Press, Madison, Milwaukee and London

CANTONI, C. und I. BOLTHER (1973)
Storage of vacuum-packaged fresh beef
Imballagio 24, 8
Ref.: FSTA 7, 12 F 566

CARPENTER, Z.L., G.C. SMITH und C. VANDERZANT (1975)
Meat microbiology - film packaged meat
Proc. Meat Ind. Res. Conf. 91

CAVETT, J.J. (1968)
The effects of newer forms of packaging on the microbiology and storage life of meats, poultry and fish
Prog. Ind. Microbiol. 7, 77

CERNY, G. (1985)
Mikrobiologische Probleme bei der Folienverpackung von Fleisch und Fleischerzeugnissen
Schweiz. Arch. Tierheilk. 127, 99

CHEAH, K.S. und A.M. CHEAH (1972)
Postmortem changes in structure and function of ox mitochondria
I. Electron microscopic and polarographic investigations
J. Bioenerg. 2, 85

CLARK, D.S. und C.P. LENTZ (1972)
Use of carbon dioxide for extending shelf-life of prepackaged beef
Can. Inst. Food Sci. Technol. J. 5, 175

DAINTY, R.H. (1981)
Volatile fatty acids detected in vacuum packaged beef during storage at chill temperatures
Proc. Europ. Meet. Meat Res. Workers 27, 688

DAINTY, R.H. und C.M. HIBBARD (1980)
Aerobic metabolism of Brochothrix thermosphacta growing on meat surfaces and in laboratory media
J. appl. Bact. 48, 387

DAINTY, R.H., B.G. SHAW, C.D. HARDING und S. MICHANIE (1979)
The spoilage of vacuum-packed beef by cold tolerant bacteria
in: A.D. RUSSEL und R. FULLER
Cold tolerant microbes in spoilage and the environment
Academic Press London, New York, San Francisco

D'ALESSANDRIA, A.V.H. und A.F. PAGLIARO (1975)
Mikrobiologisches Verhalten von vakuumverpacktem, gekühltem Rindfleisch bei längerer Lagerzeit und in Beuteln unterschiedlicher Sauerstoffdurchlässigkeit
Fleischwirtschaft 55, 1582

DUERR, P. (1981)
Grundlagen der sensorischen Beurteilung von Lebensmitteln
III. Das Messen mit Skalen
Alimenta 20, 15

DAVIDEK, M.J. (1981)
Comparison of the efficiency of triangle and tetrade test for discrimination sensory analysis of food
Nahrung 25, 561

EFFENBERGER, G. und K. SCHOTTE (1971)
Verpackung von Fleisch und Fleischwaren, Fleischforschung und Praxis
Schriftenreihe Heft 3a u. 3b
Verlag der Rheinhessischen Druckwerkstätte Alzey

EGAN, A.F. und B.J. SHAY (1982)
Significance of lactobacilli and film permeability in the spoilage of vacuum-packaged beef
J. Food Sci. 47, 1119

EICHNER, K. (1973)
Indikatoren für beginnende qualitative Veränderungen von Lebensmitteln
Dtsch. Lebensm. Rundsch. 69, 4

EINHOFF, K. (1981)
Die Bedeutung der Sensorik in der Flavouranalytik
Lebensmitteltechnik 13, 495

ELLNER, P.D., P.A. GRANATO und C.B. MAY (1973)
Recovery and identification of anaerobes:
A system suitable for the routine clinical laboratory
Appl. Microbiol. 26, 904

ENFORS, S.-O. und G. MOLIN (1978)
Mechanism of the inhibition of spore germination by inert gases and carbon dioxide
in: G. CHAMBLISS und J.C. VARY: Spores
VII ed. American Society for Microbiology, Washington D.C., S. 80

ERICHSEN, I. und G. MOLIN (1981)
Microbial flora of normal and high pH beef stored at 4 °C in different gas environments
J. Food Prot. 44, 866

ERICHSEN, I., G. MOLIN und B.M. MÖLLER (1981)
Carbon dioxide packaging as a means of controlling the spoilage flora of DFD meat
Proc. Europ. Meet. Meat Res. Workers 27, 683

EUSTACE, I.J. (1981)
Some factors affecting oxygen transmission rates of plastic films for vacuum packaging of meat
J. Food Technol. 16, 73

FARMILOE, F.J., S.J. CORNFORD, J.B.M. COPPOCK und M. INGRAM (1954)
The survival of Bacillus subtilis spores in the baking of bread
J. Sci. Food Agric. 5, 292

FIELDS, M.L., B.S. RICHMOND und R.E. BALDWIN (1968)
Food quality as determined by metabolic by-products of microorganisms
Adv. Food Res. 16, 161

FOURNAUD, J. und C. VALIN (1978)
Preservation under vacuum of meat of young cattle
Proc. Europ. Meet. Meat Res. Workers 24, C 4:1

FOURNAUD, J., T. DEGAS, O. SCHMITT und J. SECHET (1980)
Penetration of bacteria into meat
Proc. Europ. Meet. Meat Res. Workers 26, 268

GARDNER, G.A. (1966)
A selective medium for the enumeration of Microbacterium thermosphactum in meat and meat products
J. appl. Bact. 29, 455

GARDNER, G.A. und A.W. CARSON (1967)
Relationship between carbon dioxide production and growth of pure strains of bacteria on porcine muscle
J. appl. Bact. 30, 500

GILKA, J., I. INGR und J. PALASEK (1980)
Beurteilung des Frischegrades von zu Halbfertigerzeugnissen bestimmtem Fleisch
Fleischwirtschaft 60, 118

GILL, C.O. (1976)
Substrate limitation of bacterial growth at meat surfaces
J. appl. Bact. 41, 401

GILL, C.O. (1979)
A review. Intrinsic bacteria in meat
J. appl. Bact. 47, 367

GILL, C.O. und K.G. NEWTON (1978)
The ecology of bacterial spoilage of fresh meat at chill temperatures
Meat Sci. 2, 207

GILL, C.O. und K.G. NEWTON (1979)
Spoilage of vacuum-packaged dark, firm, dry meat at chill temperatures
Appl. Environ. Microbiol. 37, 362

GILL, C.O. und K.G. NEWTON (1980)
Development of bacterial spoilage at adipose tissue surfaces of fresh meat
Appl. Environ. Microbiol. 39, 1076

GILL, C.O. und N. PENNEY (1982)
Bacterial penetration of muscle tissue
J. Food Sci. 47, 690

GILL, C.O., N. PENNEY und P.M. NOTTINGHAM (1978)
Tissue sterility in uneviscerated carcasses
Appl. Environ. Microbiol. 36, 356

GORNA, M. (1980)
Pathologische Veränderungen von Rindfleisch und dessen kulinarischer Wert in Abhängigkeit von der Verpackung
Fleisch 34, 53

GRAU, F.H. (1978)
The spoilage of meat and meat products
Food Technol. Aust. 30, 385

GRAU, F.H. (1979)
Fresh meats: Bacterial association
Arch. Lebensmittelhyg. 30, 87

GRAU, F.H. (1981)
Role of pH, lactate and anaerobiosis in controlling the growth of some fermentative gram negative bacteria on beef
Appl. Environ. Microbiol. 42, 1043

GRAU, F.H. (1983)
Microbial growth on fat and lean surfaces of vacuum-packaged chilled beef
J. Food Sci. 48, 326

GREER, G.G. und L.E. JEREMIAH (1981)
Proper control of retail case temperature improves beef shelf-life
J. Food Prot. 44, 297

GRIDGEMAN, N.T. (1970)
A reexamination of the two-stage triangle test for the perception of sensory differences
J. Food Sci. 35, 87

GRIFFIN, D.B., J.W. SAVELL, G.C. SMITH, C. VANDERZANT, R.N. TERRELL, K.D. LIND und D.E. GALLOWAY (1982)
Centralized packaging of beef loin steaks with different oxygen-barrier films: Physical and sensory characteristics
J. Food Sci. 47, 1059

GUTKOWSKI, G.H., M.C. HUNT, C.L. KASTNER, D.H. KROPF und D.M. ALLEN (1979)
Vacuum aging, display and level of nutrition effects on beef quality
J. Food Sci. 44, 140

HAINES, R.B. (1937)
Microbiology in the preservation of animal tissue
Dept. Sci. Indust. Res. Lond.: Food Inves. Spec. Rep. 45

HAMM, R. (1972)
Kolloidchemie des Fleisches
Paul Parey Berlin, Hamburg

HANNA, M.O., C. VANDERZANT, Z.L. CARPENTER und G.C. SMITH (1977)
Characteristics of psychrotrophic, gram-positive, pleomorphic coccoid rods from vacuum-packaged wholesale cuts of beef
J. Food Prot. 40, 94

HANNA, M.O., D.L. ZINK, Z.L. CARPENTER und C. VANDERZANT (1976)
Yersinia enterocolitica-like organisms from vacuum-packaged beef and lamb
J. Food Sci. 41, 1254

HECHELMANN, H., Z. BEM, K. UCHIDA und L. LEISTNER (1974)
Vorkommen des Tribus Klebsielleae bei kühlgelagertem Fleisch und Fleischwaren
Fleischwirtschaft 54, 1515

HEINZ, G. (1974)
Gekühlte vakuumverpackte Teilstücke vom Rind unter den Bedingungen einer verlängerten Lagerzeit
Fleischwirtschaft 54, 1635

HEISS, R. und K. EICHNER (1969)
Stand der Forschung der Verpackung von Frischfleisch
I. Mitteilung:
Beiträge zur Erzielung einer optimalen Verpackung von frischem Rindfleisch
Fleischwirtschaft 49, 757

HESS, E. (1978)
Diskussionsbeitrag zur 19. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der DVG in Garmisch-Partenkirchen v. 12.-15.09.1978

HESS, E. und A. MARTHALER (1962)
Keimzählung an abgepacktem Frischfleisch
Fleischwirtschaft 42, 497

HESS, E., W. RUOSCH und C. BREER (1980)
Verfahren zur Verlängerung der Haltbarkeit von verpacktem Frischfleisch
Fleischwirtschaft 60, 1448

HERMANSEN, P. (1980)
The spoilage of vacuumpackaged pork with high ultimate pH
Proc. Europ. Meet. Meat Res. Workers 26, 300

HOFMANN, K. (1968)
Untersuchung der Zuverlässigkeit der pH-Wert-Messung an Fleisch mit Hilfe der Glaselektrode
Fleischwirtschaft 48, 317

HOLTHÖFER, -., -. JUCKENACK und -. NÜSE (1961)
Deutsches Lebensmittelrecht, Band I
Carl Heymanns Verlag, Berlin - Köln - München - Bonn

INGRAM, M. (1962)
Microbiological principles in prepackaging meats
J. appl. Bact. 25, 259

INGRAM, M. (1971)
Microbial changes in foods - general considerations
J. appl. Bact. 34, 1

INGRAM, M. und R.H. DAINTY (1971)
Changes caused by microbes in spoilage of meats
J. appl. Bact. 34, 21

JAYE, M., R.S. KITTAKA und Z.J. ORDAL (1962)
The effect of temperature and packaging material on the storage life and bacterial flora of ground beef
Food Technol. 16, 95

JELLINEK, G. (1981)
Sensorische Lebensmittelprüfung
D & PS Verlag, Pattersen 1

JOHNSON, B.Y. (1974)
Chilled vacuum-packaged beef
CSIRO Food Res. 34, 14

JOHNSTON, R.W., M.E. HARRIS, A.B. MORAN, G.W. KRUMM und W.H. LEE (1982)
A comparative study of the microbiology of commercial vacuum-packaged and hanging beef
J. Food Prot. 45, 223

KENNEDY, J.E., J.L. OBLINGER und R.L. WEST (1982)
Microbiological comparison of hot-boned and conventionally processed beef plate cuts during extended storage
J. Food Prot. 45, 607

KIELWEIN, G. (1969)
Ein Nährboden zur selektiven Züchtung von Pseudomonaden und Aeromonaden
Arch. Lebensmittelhyg. 20, 131

KIELWEIN, G. (1971a)
Pseudomonaden und Aeromonaden in Trinkmilch:
Ihr Nachweis und ihre Bewertung
Arch. Lebensmittelhyg. 22, 15

KIELWEIN, G. (1971b)
Die Isolierung und Differenzierung von Pseudomonaden aus Lebensmitteln
Arch. Lebensmittelhyg. 22, 29

KIERMEIER, F. und U. HAEVECKER (1972)
Sensorische Beurteilung von Lebensmitteln
J.F. Bergmann-Verlag, München

KING, A.D. und C.W. NAGEL (1975)
Influence of carbon dioxide upon the metabolism of Pseudomonas aeruginosa
J. Food Sci. 40, 362

KITCHELL, A.G. und B.G. SHAW (1975)
Lactid acid bacteria in fresh and cured meats
in: J.G. CARR, C.V. CUTTING und G.C. WHITING: Lactid acid Bacteria in Beverages and Food
Academic Press, London, New York, San Francisco

KRAFT, A.A. und J.C. AYRES (1952)
Post mortem change in stored meats. IV. Effect of packing materials on keeping quality of self-service meats
Food Technol. 6, 8

KREUTER, U. (1978a)
Sensorische Analyse, 1. Teil
Alimenta 17, 49

KREUTER, U. (1978b)
Sensorische Analyse, 2. Teil
Alimenta 17, 99

KUNINAKA, A., M. KIBI und K. SAKAGUCHI (1964)
History and development of flavor nucleotides
Food Technol. 18, 29

LAWRIE, R.A. (1966)
Meat Science
Pergamon Press Ltd., Oxford - London - Edinburgh - New York - Toronto

LEISTNER, L. (1974)
Mikrobiologie der Verpackung von Fleisch und Fleischwaren
Fleischwirtschaft 54, 1036

LEISTNER, L. (1981)
Ursachen des mikrobiellen Verderbs
Fleischerei 32, 364

LUBIENIECKI von SCHELHORN, M. (1975)
Die Sauerstoffkonzentration als bestimmender Faktor für mikrobielle Vorgänge in Lebensmitteln unter besonderer Berücksichtigung einer sauerstofffreien Verpackung
Verpackungs-Rundschau 26, 1

LUKE, K. (1978)
Zur Charakterisierung des mikrobiellen Verderbs bei vakuumverpackten Brühwurstwaren
Vet. med. Diss., Berlin

MACKEY, B.M. und C.M. DERRICK (1979)
Contamination of the deep tissues of carcasses by bacteria present on the slaughter instruments or in the gut
J. appl. Bact. 46, 355

MARTIN, W.J. (1971)
Practical methods for isolation of anaerobic bacteria in the clinical laboratory
Appl. Microbiol. 22, 1168

MEAD, G.C. und B.W. ADAMS (1977)
A selective medium for the rapid isolation of Pseudomonads associated with poultry meat spoilage
Br. Poult. Sci. 18, 661

MINKS, D. und W.C. STRINGER (1972)
The influence of aging beef in vacuum
J. Food Sci. 37, 736

MOSSEL, D.A.A. (1971)
Physiological and metabolic attributes of microbial groups associated with food
J. appl. Bact. 34, 95

NEWTON, K.G. und C.O. GILL (1978)
Storage quality of dark, firm, dry meat
Appl. Environ. Microbiol. 36, 375

NEWTON, K.G. und C.O. GILL (1981)
The microbiology of DFD fresh meats: A review
Meat Sci. 5, 223

NEWTON, K.G. und W.J. RIGG (1979)
The effect of film permeability on the storage life and microbiology of vacuum-packaged meat
J. appl. Bact. 47, 433

Normenausschuß Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V. (1978)
Dreiecksprüfung, DIN 10951
Beuth-Verlag GmbH, Berlin 30 u. Köln 1

PAGLIARO, A.F., R.R. DAGATTI und A.V.H. D'ALESSANDRIA (1972)
Some factors affecting colour preservation of chilled vacuum-packed primal beef cuts under prolonged storage
MRI (Meat Research Institute) Symposium 2, 9.1

PATTERSON, J.T. und J.P. SUTHERLAND (1973)
The microflora developing aerobically on beef after aging in vacuo
Proc. Europ. Meet. Meat Res. Workers 19, 327

PAULI, H. (1981a)
Genußwert und sensorische Prüfung von Lebensmitteln
Teil 2: Physiologie der Sinne
AID Verbraucherdienst 26, 184

PAULI, H. (1981b)
Genußwert und sensorische Prüfung von Lebensmitteln
Teil 3: Sensorische Prüfverfahren
AID Verbraucherdienst 26, 276

PAULUS, K. (1976)
Grundlagen und Methoden der sensorischen Analyse von Lebensmitteln
Ernährungswirtschaft/Lebensmitteltechnik 23, 558

PAULUS, K., R. ZACHARIAS, L. ROBINSON und H. GEIDEL (1979)
Kritische Betrachtungen zur 'Bewertenden Prüfung mit Skalen'
als einem wesentlichen Verfahren der sensorischen Analyse
Lebensm.-Wiss. u. Technol. 12, 52

PIERSON, M.D., D.L. COLLINS-THOMPSON und Z.J. ORDAL (1970)
Microbiological, sensory and pigment changes of aerobically and
anaerobically packaged beef
Food Technol. 24, 1171

POTTHAST, K. und R. HAMM (1976)
Biochemie des DFD-Fleisches
Fleischwirtschaft 56, 978

PRICE, J.F. und B.S. SCHWEIGERT (1971)
The science of meat and meat products
W.H. Freeman and Company, San Francisco

RACCACH, M. und R.C. BAKER (1978)
Lactic acid bacteria as an antispoilage and safety factor in cooked,
mechanically deboned poultry meat
J. Food Prot. 41, 703

RACCACH, M. und R.C. BAKER (1979)
The effect of lactic acid bacteria on some properties of mechanically
deboned poultry meat
Poult. Sci. 58, 144

RACCACH, M., R.C. BAKER, J.M. REGENSTEIN und E.J. MULNIX (1979)
Potential application of microbial antagonism to extended storage stability of a flesh type food
J. Food Sci. 44, 43

REUTER, G. (1968)
Erfahrungen mit Nährböden für die selektive mikrobiologische Analyse von Fleischerzeugnissen
Arch. Lebensmittelhyg. 19, 53 u. 84

REUTER, G. (1970a)
Mikrobiologische Analyse von Lebensmitteln mit selektiven Medien
Arch. Lebensmittelhyg. 21, 30

REUTER, G. (1970b)
Laktobazillen und eng verwandte Mikroorganismen in Fleisch und Fleischwaren
4. Mitteilung: Die Ökologie von Laktobazillen, Leuconostoc-Spezies u. Pediokokken
Fleischwirtschaft 50, 1397

REUTER, G. (1972)
Untersuchungen zur antagonistischen Wirkung der Milchsäurebakterien auf andere Keimgruppen der Lebensmittelflora
Zentralbl. Veterinärmed. Reihe B, 19, 320

RÖSCHKE, R. (1977)
Beziehung zwischen mikrobiologisch-kulturellem Befund und Pyruvatgehalt der Trinkmilch in Berlin(West) unter besonderer Berücksichtigung der Psychrotrophenflora
Vet. med. Diss., Berlin

ROSENBLATH, J.E., A. FALLON und S.M. FINEGOLD (1973)
Comparison of methods for isolation of anaerobic bacteria from clinical specimens
Appl. Microbiol. 25, 77

ROTH, L.A. und D.S. CLARK (1972)
Studies on the bacterial flora of vacuum-packaged fresh beef
Can. J. Microbiol. 18, 1761

RUOSCH, W. (1977)
Der quantitative Nachweis von Enterobacteriaceen im Rahmen der bakteriologischen Betriebshygienekontrolle
7. Internationales Symposium W.A.V.F.H., 11.09. - 16.09.1977 in Garmisch-Partenkirchen

SCHAAL, K.P. (1974)
Natürliches Vorkommen und klinische Bedeutung grampositiver, nicht sporenbildender Anaerobien
Zentralbl. Bakteriol. I. Abt. Orig. A Med. Mikrobiol. Infektionskr. Parasitol. 228, 56

SCHÖNBERG, F. und R. KÖNEKAMP (1962)
Zur Temperaturabhängigkeit der Proteolyse durch psychrotolerante Bakterien, insbesondere Pseudomonas fluorescens liquefaciens, gleichzeitig ein Beitrag zur Haltbarkeit von verpacktem und gekühltem Hackfleisch
Arch. Lebensmittelhyg. 13, 101

SCHNEIDER, W. (1982)
Beurteilung des Frischezustandes von gegarten, vakuumverpackten Aufschnittwaren aufgrund der Mikroflora, der D(-)-Lactat-Konzentration und der sensorischen Analyse
Vet. med. Diss., Berlin

SEELYE, R.J. und B.J. YEARBURY (1979)
Isolation of Yersinia enterocolitica-resembling organisms and Alteromonas putrefaciens from vacuum-packed chilled beef cuts
J. appl. Bact. 46, 493

SEIDEMAN, S.C., Z.L. CARPENTER, G.C. SMITH, C. VANDERZANT und K.E. HOKE (1976)
A comparison of vacuum packaging systems and films on the physical characteristics of beef cuts
J. Milk Food Technol. 39, 740

SHAW, B.G., C.D. HARDING und A.A. TAYLOR (1980)
The microbiology and storage stability of vacuum packed lamb
J. Food Technol. 15, 397

SHERIDAN, J.J. (1982)
What causes the poor shelf-life of vacuumpackaged dark firm dry beef?
Farm Food Res. 13, 21

SINELL, H.-J. (1980)
Einführung in die Lebensmittelhygiene
Verlag Paul Parey - Berlin und Hamburg

SINELL, H.-J. (1981)
Psychrotrophic microorganisms in spoilage and pathogenicity
Arch. Lebensmittelhyg. 32, 52

SINELL, H.-J. (1982)
Mikrobiologie des Fleisches und der Fleischwaren
Fleischwirtschaft 62, 729

SINELL, H.-J. und J. BAUMGART (1967)
Selektivnährböden mit Eigelb zur Isolierung von pathogenen Staphylokokken aus Lebensmitteln
Zentralbl. Bakteriol. I. Abt. Orig. A Med. Mikrobiol. Infektionskr. Parasitol. 204, 248

SINELL, H.-J., G. REUTER und F. UNTERMANN (1965)
Zur Standardisierung der aeroben Gesamtkeimzahlbestimmung in Fleisch- und Fleischerzeugnissen
1. Mitteilung: Prüfung von Nährböden und Beimpfungsverfahren
Arch. Lebensmittelhyg. 16, 217

SPAULDING, E.A. (1973)
Basic anaerobic culture procedure for clinical microbiology laboratories
Anaerobe Laboratory, Temple University Health Center, Philadelphia, P.A.

STALONS, D.R., C. THORNBERRY und V.R. DOWELL, jr. (1974)
Effect of culture media and carbon dioxide concentration on growth of anaerobic bacteria commonly encountered in clinical specimens
Appl. Microbiol. 27, 1098

STEFFEN, Chr., B. NICK und B. BLANC (1975)
Methodik zur enzymatischen Bestimmung von Lactose, Glucose, Galaktose und Lactat im Käse
Schweiz. Milchw. Forsch. 4, 13

SUTHERLAND, J.P., J.T. PATTERSON und J.G. MURRAY (1975)
Changes in the microbiology of vacuum-packed beef
J. appl. Bact. 39, 227

SUTHERLAND, J.P., P.A. GIBBS, J.T. PATTERSON und J.G. MURRAY (1976)
Biochemical changes in vacuum packaged beef occurring during storage at 0 - 2 °C
J. Food Technol. 11, 171

SUTHERLAND, J.P., J.T. PATTERSON, P.A. GIBBS und J.G. MURRAY (1975)
Some metabolic and biochemical characteristics of representative microbial isolates from vacuum-packaged beef
J. appl. Bact. 39, 239

TÄNDLER, K. (1973)
Verfahren für verlustarme Rindfleischreifung
Fleischwirtschaft 53, 1563

TÄNDLER, K. (1976)
Moderne Technologien für die Frischfleischreifung
Zeitschr. Lebensmitteltechnol. Verfahrenstechn. 27, 329

TÄNDLER, K. (1980)
Durchführung organoleptischer und sensorischer Untersuchungen in der Praxis
Fleischerei 31, 292

TÄNDLER, K. (1982)
Reduzierung des Flüssigkeitsaustritts bei verpackten Frischfleisch-Teilstücken
II. Möglichkeiten zur Reduzierung des Flüssigkeitsaustrittes
Fleischwirtschaft 62, 278

TÄNDLER, K. und G. HEINZ (1970a)
Frischfleischreifung im Vakuumbeutel
I. Mitteilung:
Fleischwirtschaft 50, 1185

TÄNDLER, K. und G. HEINZ (1970b)
Frischfleischreifung im Vakuumbeutel
II. Mitteilung:
Fleischwirtschaft 50, 1371

TÄNDLER, K. und G. HEINZ (1971)
Frischfleischreifung im Vakuumbeutel
III. Mitteilung:
Fleischwirtschaft 51, 56

TÄNDLER, K. und H. HÄHNE (1973)
Optimale Fleischzerlegung ist nicht allein eine Frage der Schnittführung
Fleischwirtschaft 53, 797

TÄNDLER, K., I. VOGT und H. PÖLLEIN (1982)
Reduzierung des Flüssigkeitsaustritts bei verpacktem Fleisch
Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach
Jahresbericht 1981, 6.1, C 17

TAN, K.H. und C.O. GILL (1982)
Physiological basis of CO_2 inhibition of a meat spoilage bacterium, Pseudomonas fluorescens
Meat Sci. 7, 9

TAYLOR, A.A. und B.G. SHAW (1977)
The effect of meat pH and package permeability on putrefaction and greening in vacuum packed beef
J. Food Technol. 12, 515

UNTERMANN, F. (1970)
Varianzanalytische Untersuchungen über die Fehlergröße der "drop-plating"-Technik bei kulturellen Keimzahlbestimmungen an Lebensmitteln
Zentralbl. Bakteriol. I. Abt. Orig. A Med. Mikrobiol. Infektionskr. Parasitol. 215, 563

VANDERZANT, C., G.C. SMITH, M.O. HANNA und D.L. ZINK (1980)
New potential pathogenes in fresh meat
Proc. Ann. Recip. Meat Conf. Am. Meat Sci. Assoc., 59

VASILIEVA, L.D., G.A. BALANDINA und L.F. KANYKINA (1979)
Quality of chilled natural ready-to-cook pork products during storage in vacuum packs
Proc. Europ. Meet. Meat Res. Workers 25, 393

WEBER, E. (1980)
Grundriß der biologischen Statistik
Gustav Fischer Verlag Stuttgart - New York

WIEGNER, J. und G. HILDEBRANDT (1982)
Die Absaugmethode als Verfahren einer kontinuierlichen Hygienekontrolle bei vakuumverpacktem Rindfleisch
Fleischwirtschaft 62, 702

WIESEL, V. (1980)
Frischfleischverpackung mit "Hochvakuum"
Fleischerei 31, 453

WIESEL, V. (1981)
Qualität des Frischfleisches in Abhängigkeit von Verpackungsfolie und -maschine
Fleischerei 32, 512

WIRTH, F. (1976)
Technologie bei DFD-Fleisch
Fleischwirtschaft 56, 988

WIRTH, F. und S. HAUPTMANN (1980)
Sensorik-Ausbildung für Sachverständige der DLG-Qualitätsprüfungen für Fleischerzeugnisse
Fleischwirtschaft 60 (1), Sonderdruck

WRINSTANLEY, M. (1979)
The aging of meat
Nutr. Food Sci. 60, 8

WYATT, C.J. und V. GUY (1980)
Relationships of microbial quality of retail meat samples and sanitary conditions
J. Food Prot. 43, 385

ZIPFEL, W. (1984)
Lebensmittelrecht
Kommentar der gesamten lebensmittelrechtlichen Vorschriften
C.H. Beck'sche Verlagsbuchhandlung München
Stand 1. März 1984

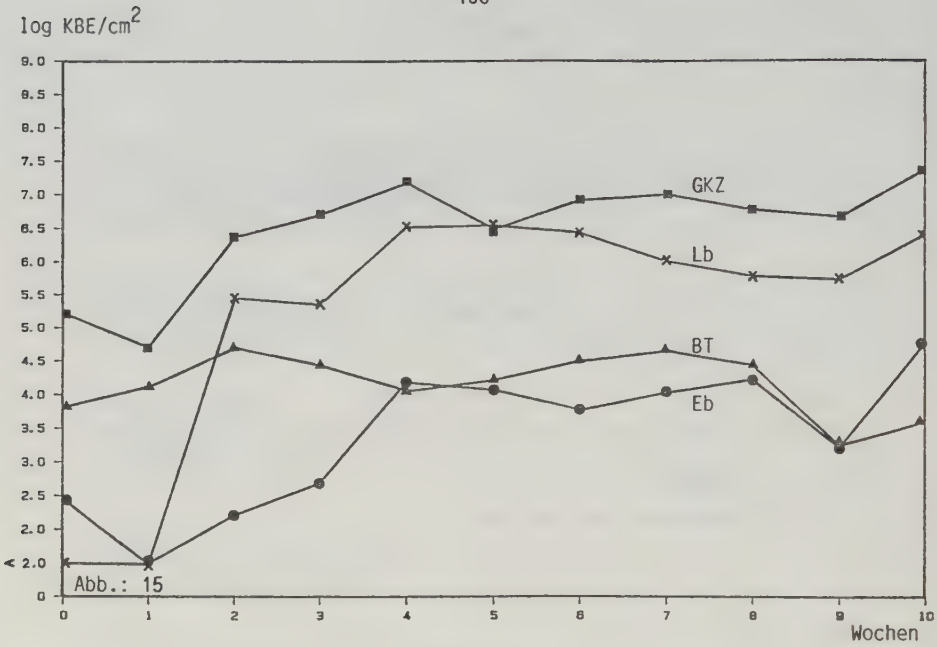
de ZUTTER, L. und J. van HOOF (1982)
Bacterial growth in exudate of vacuum packed beef
Proc. Europ. Meet. Meat Res. Workers 28, 355

8. ANHANG

(Graphiken und Tabellen)

In den Graphiken gelten folgende Abkürzungen:

GKZ	=	Gesamtkeimzahl
Lb	=	Laktobazillen (LS-Agar)
Eb	=	Enterobakteriazeen
BT	=	Brochothrix thermosphacta
Ps	=	Pseudomonaden
Cf	=	Coliforme
He	=	Hefen
Mk	=	Mikrokokken



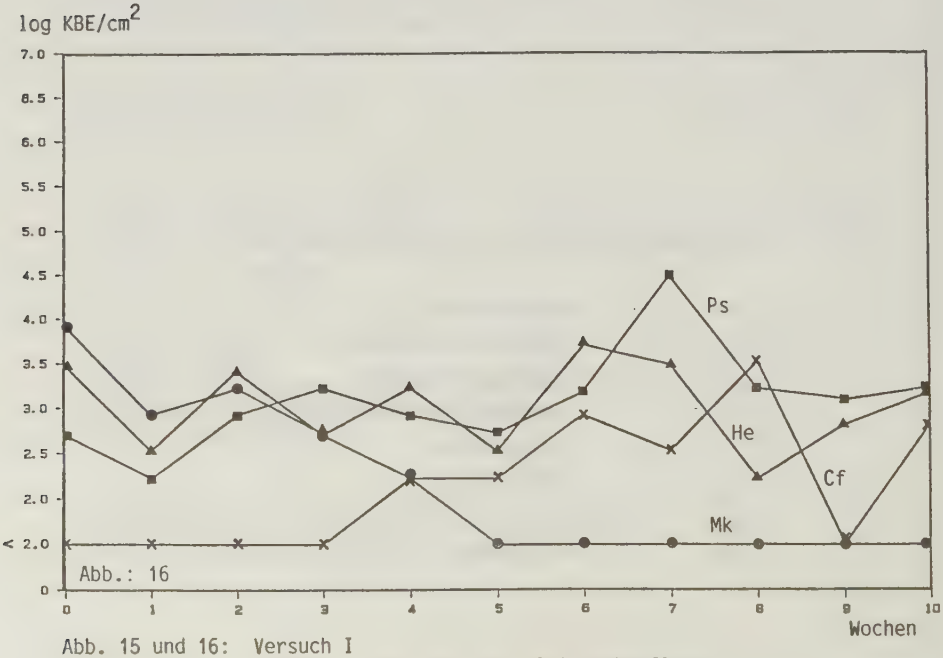
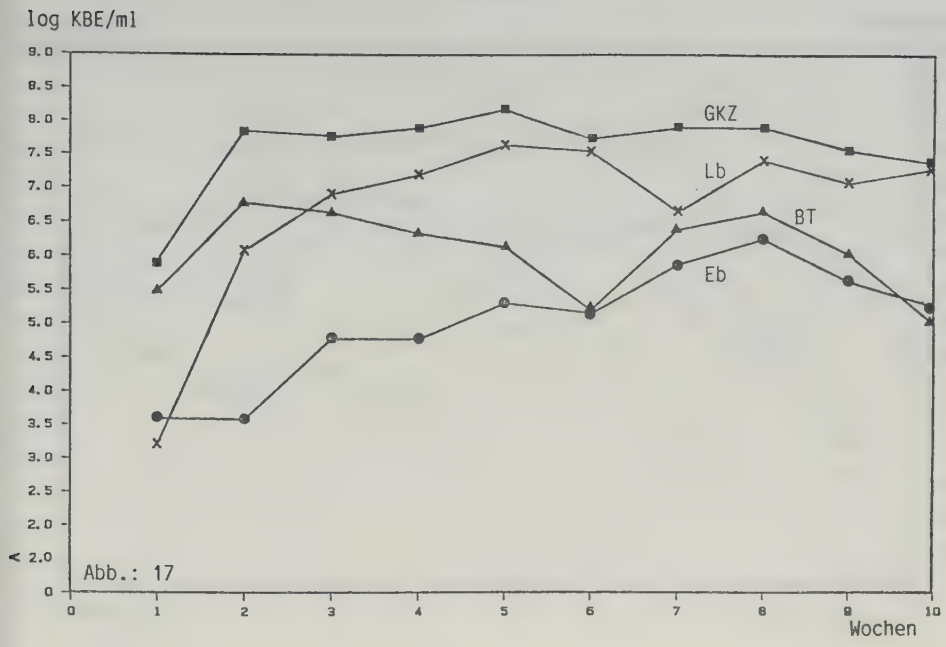


Abb. 15 und 16: Versuch I
Keimentwicklung auf der Fleischoberfläche



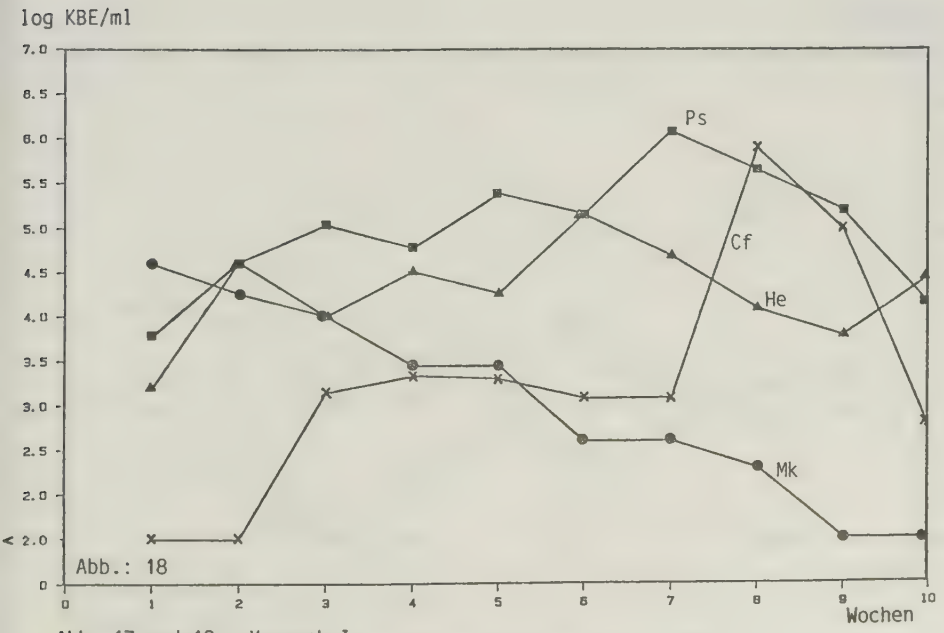
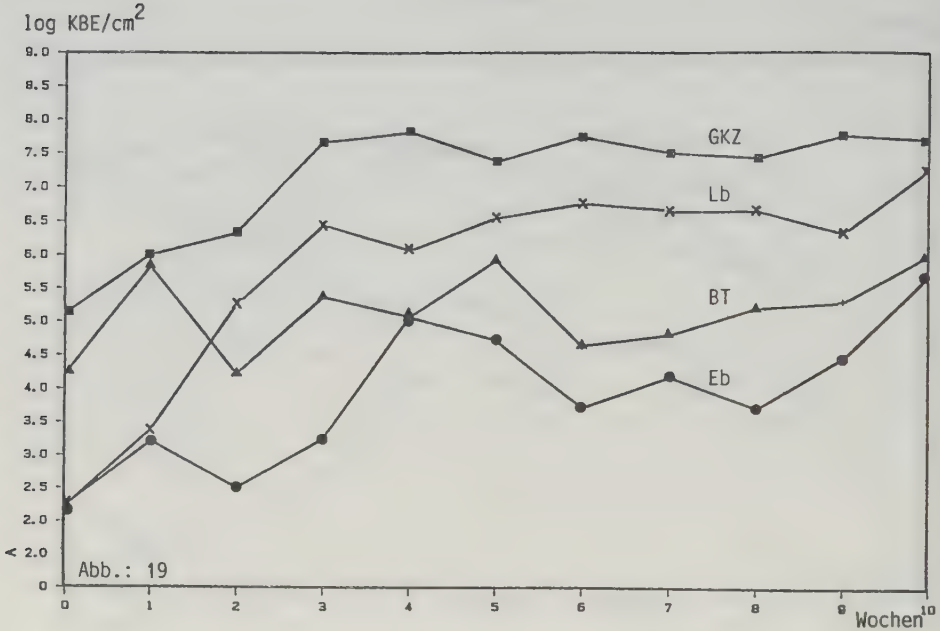


Abb. 17 und 18: Versuch I
Keimentwicklung im Fleischsaft



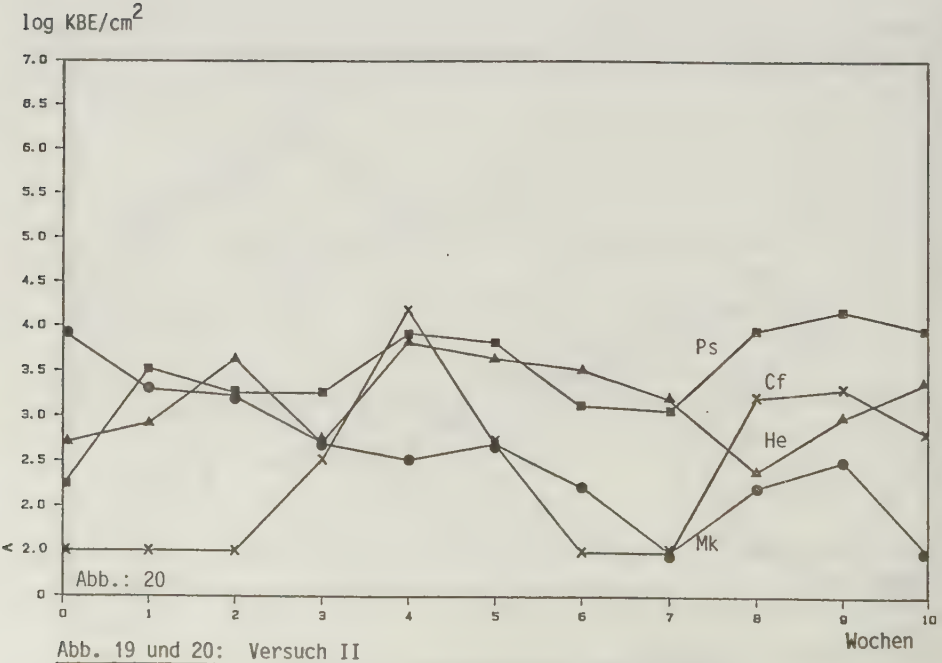
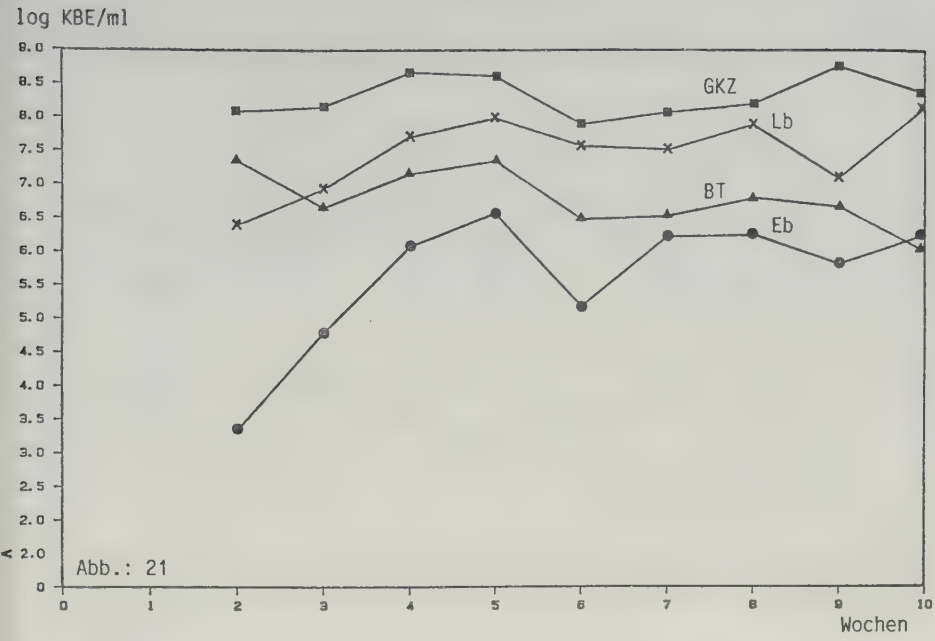


Abb. 19 und 20: Versuch II
Keimentwicklung auf der Fleischoberfläche



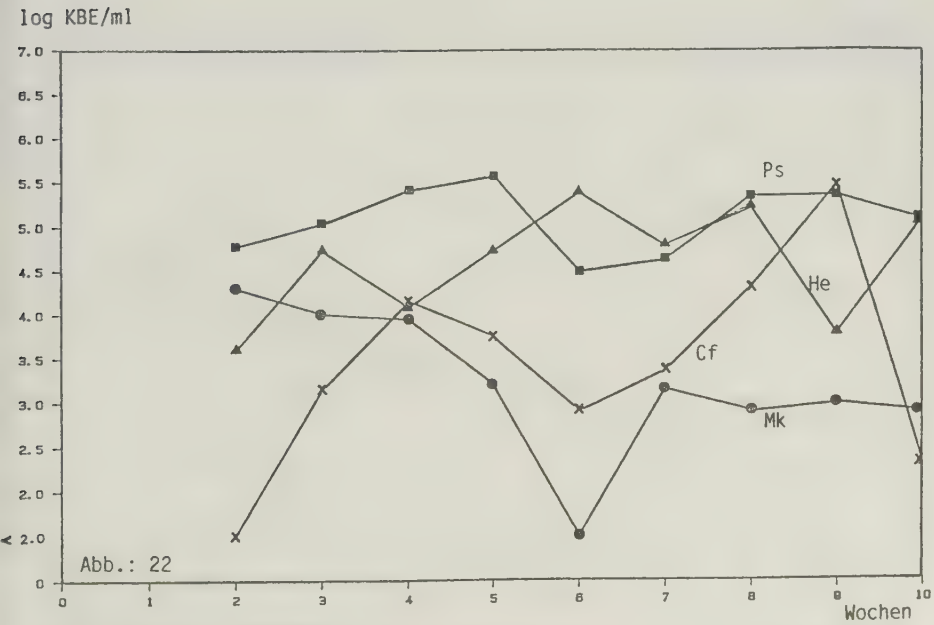
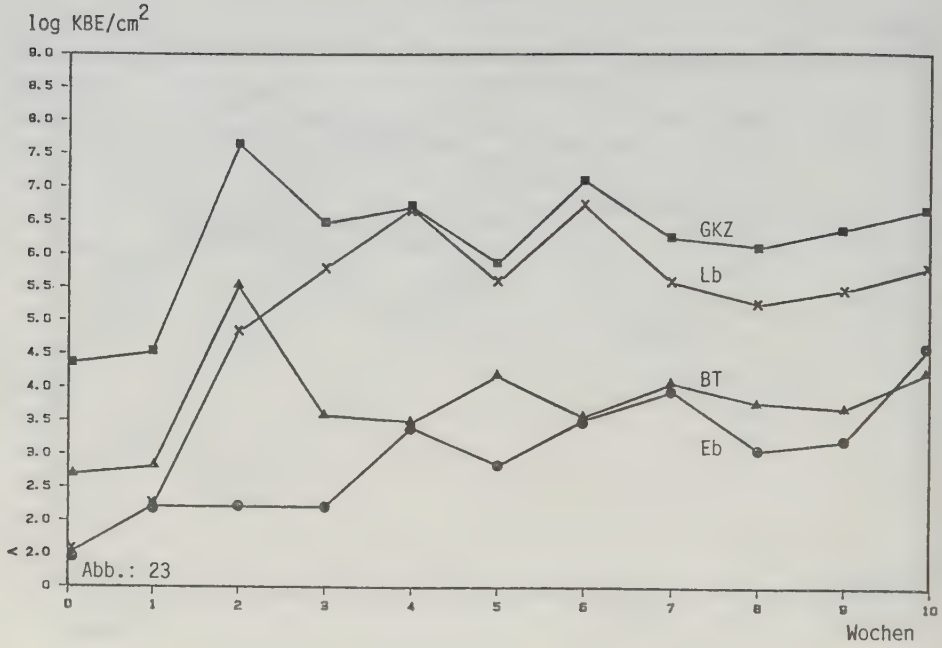


Abb. 21 und 22: Versuch II
Keimentwicklung im Fleischsaft



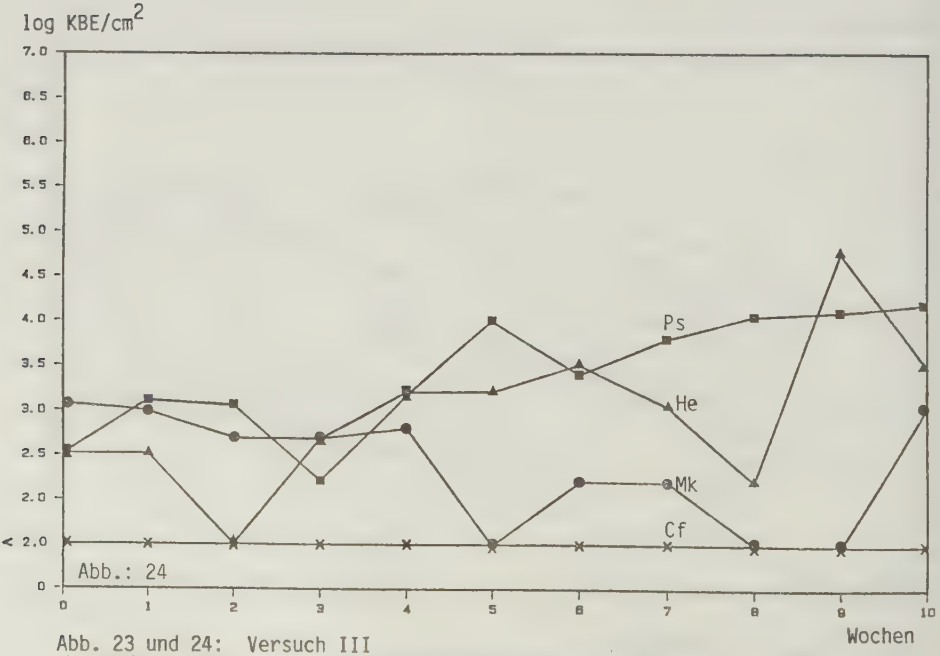
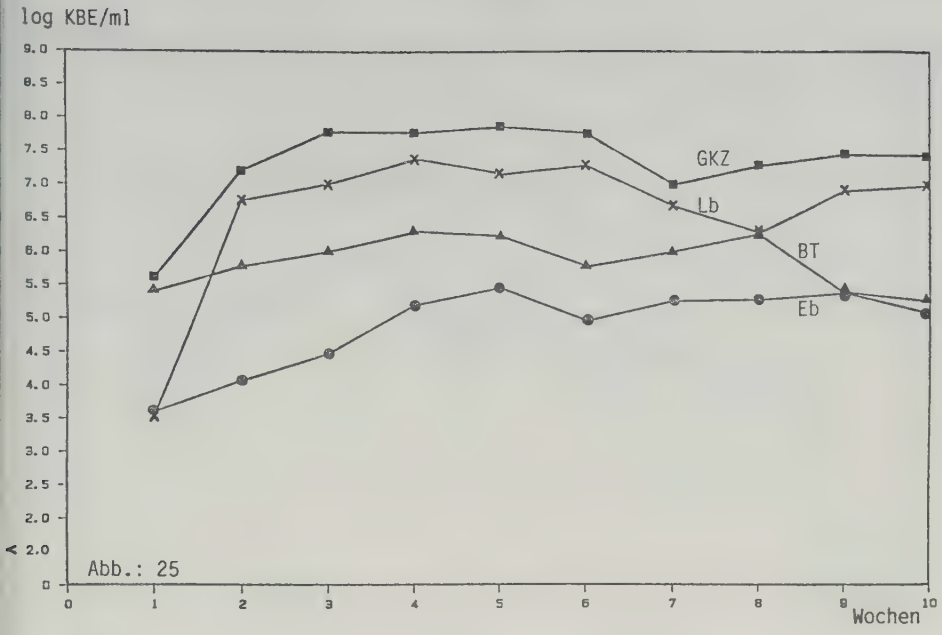


Abb. 23 und 24: Versuch III
Keimentwicklung auf der Fleischoberfläche



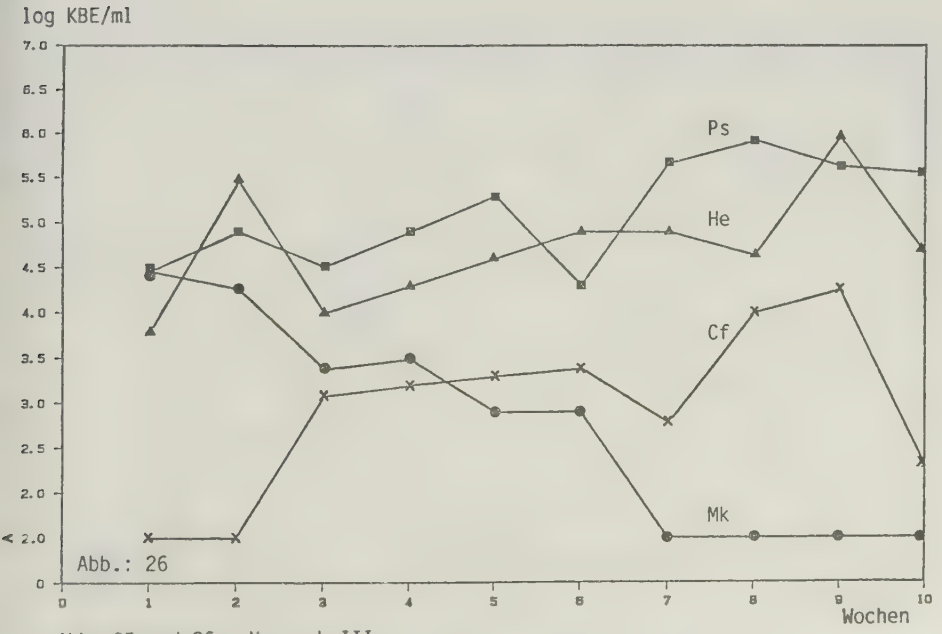
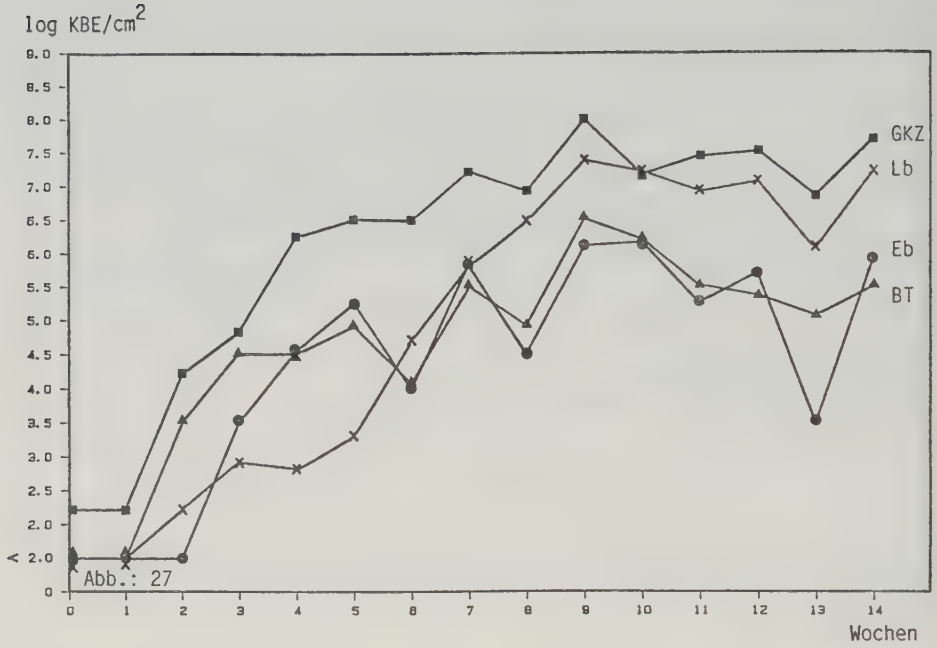


Abb. 25 und 26: Versuch III
Keimentwicklung im Fleischsaft



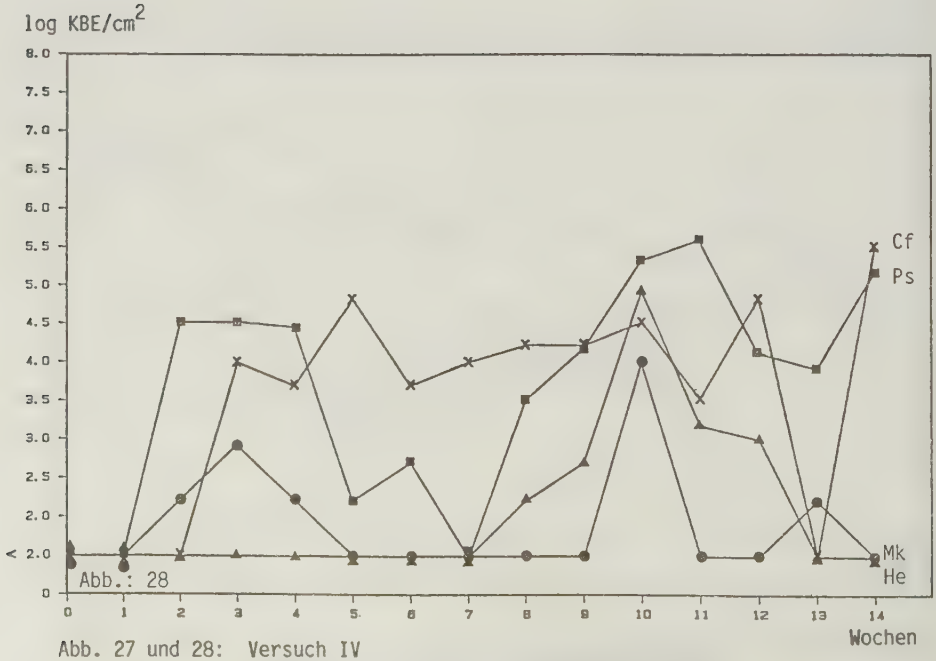
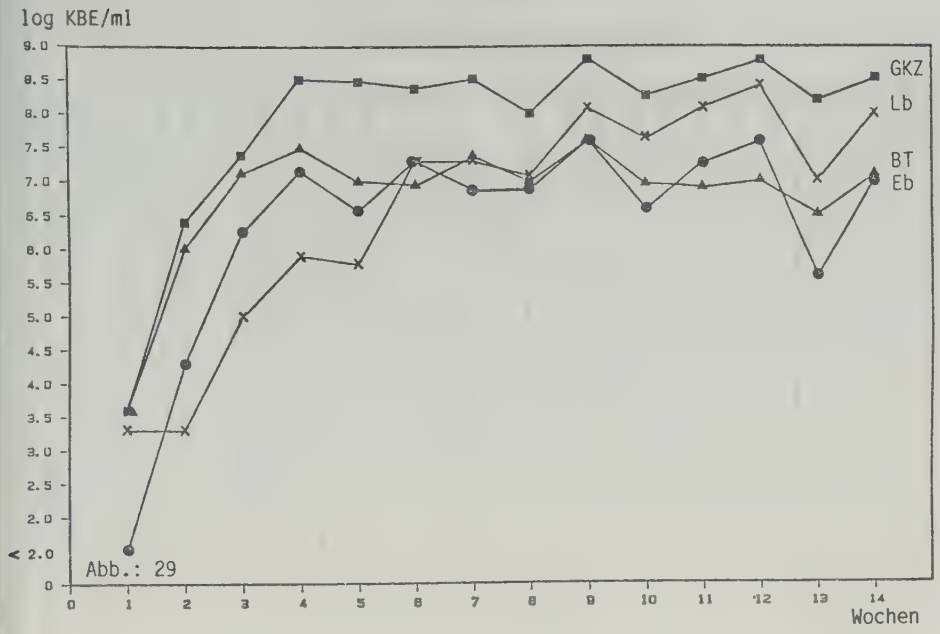


Abb. 27 und 28: Versuch IV
Keimentwicklung auf der Fleischoberfläche



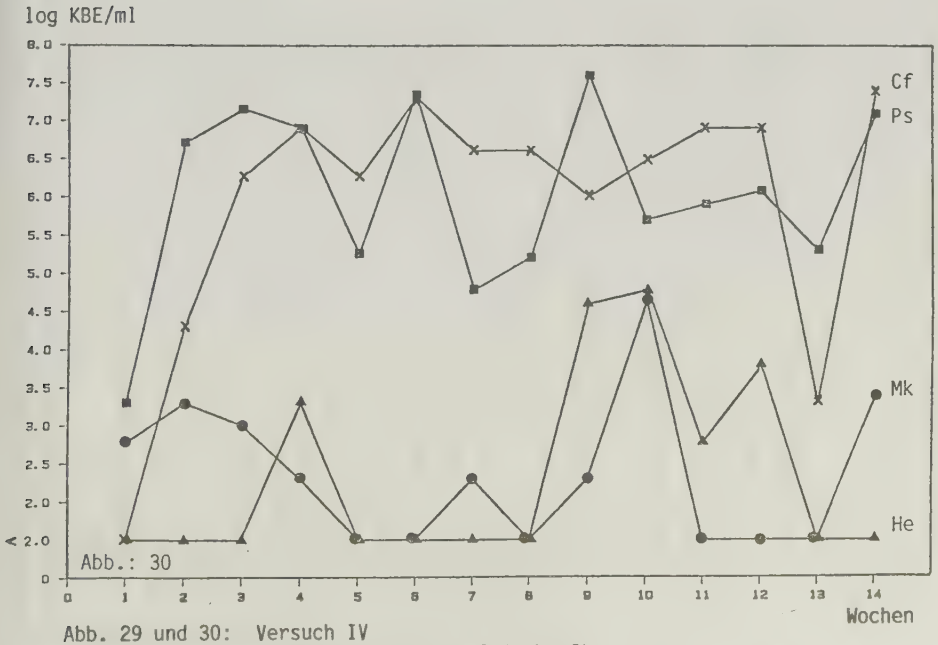


Abb. 29 und 30: Versuch IV
Keimentwicklung im Fleischsaft

V E R S U C H I (Fleisch)*

Lager-wochen	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ISO 30°	5.22	4.70	6.37	6.71	7.18	6.49	6.92	7.00	6.77	6.66	7.37
ISO 4°	4.12	4.70	7.18	7.07	7.37	7.30	7.76	7.18	7.15	7.03	7.73
La	3.82	3.82	6.43	6.48	7.22	7.10	6.92	6.85	6.55	6.68	7.30
LS	<2.0	<2.0	5.45	5.35	6.52	6.54	6.43	6.00	5.77	5.73	6.40
GSP 22°	2.70	2.22	2.92	3.22	2.92	2.72	3.18	4.48	3.22	3.10	3.24
GSP 4°	3.07	2.70	3.70	3.52	3.07	2.22	3.49	4.65	3.48	3.52	4.18
CFC 22°	-	-	-	4.52	4.50	3.76	4.45	5.24	5.30	3.82	4.30
CFC 4°	-	-	-	4.92	4.86	3.92	4.85	5.24	5.30	4.15	4.52
VL	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	2.22	2.22	2.92	2.52	3.52	<2.0	2.82
VG	2.44	<2.0	2.22	2.70	4.18	4.07	3.77	4.03	4.22	3.22	4.78
En	2.44	2.22	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	2.22	<2.0	<2.0
Kr	3.92	2.92	3.22	2.70	2.22	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0
STAA	3.82	4.12	4.70	4.44	4.07	4.22	4.50	4.65	4.43	3.26	3.60
Ro	3.48	2.52	3.40	2.70	3.22	2.52	3.70	3.48	2.22	2.82	3.18
pH-Wert	5,5	5,5	5,6	5,5	5,4	5,4	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3
D-Lactat mg/g	n.n.	Sp	Sp	0,68	1,76	3,34	4,89	4,54	5,34	5,36	5,67
Sensorik-punkte	0	0	0	0	5	3	9	10	10	10	12
aer. Haltb. (Tage)	3	3	2	2	1	1	1	1	1	0	0

* Angabe der Keimzahlen als dekadische Logarithmen

V E R S U C H I (Fleischsaft)*

Lager-wochen	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ISO 30°	-	5.90	7.85	7.78	7.91	8.18	7.74	7.91	7.91	7.57	7.38
ISO 4°	-	5.90	8.08	8.48	8.64	8.89	8.72	8.18	8.00	8.49	7.34
La	-	4.53	7.58	7.90	8.26	8.18	7.71	7.79	7.52	7.46	7.60
LS	-	3.20	6.08	6.91	7.20	7.64	7.54	6.65	7.41	7.08	7.30
GSP 22°	-	3.78	4.62	5.04	4.78	5.38	5.15	6.08	5.64	5.20	5.38
GSP 4°	-	3.78	4.81	4.90	4.60	5.49	5.30	6.38	5.43	5.38	5.59
CFC 22°	-	-	-	6.94	5.49	6.30	6.60	7.30	7.43	6.00	5.48
CFC 4°	-	-	-	7.00	6.26	6.34	6.51	7.52	7.49	6.18	5.64
VL	-	<2.0	<2.0	3.15	3.34	3.30	3.08	3.08	5.89	5.00	2.78
VG	-	3.60	3.58	4.78	4.78	5.30	5.15	5.88	6.26	5.63	5.26
En	-	2.60	2.30	2.78	2.30	2.30	<2.0	<2.0	2.60	<2.0	<2.0
Kr	-	4.60	4.26	4.00	3.45	3.45	2.60	2.60	2.30	<2.0	<2.0
STAA	-	5.48	6.78	6.64	6.43	6.15	5.20	6.40	6.65	6.04	5.00
Ro	-	3.20	4.62	4.00	4.51	4.26	5.15	4.68	4.08	3.78	4.45
pH-Wert	-	5,5	5,5	5,5	5,2	5,2	5,2	5,4	5,3	5,2	5,2
D-Lactat mg/ml	n.n.	Sp	0,67	2,96	5,47	5,69	6,33	5,42	6,15	6,28	5,98
Sensorik-punkte	0	0	0	0	5	3	9	10	10	10	12

* Angabe der Keimzahlen als dekadische Logarithmen

V E R S U C H II (Fleisch)*

Lager-wochen	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ISO 30°	5.12	6.00	6.33	7.68	7.82	7.38	7.74	7.50	7.43	7.77	7.71
ISO 4°	4.52	6.52	6.52	7.92	8.08	8.03	8.10	7.49	7.53	7.75	8.00
La	4.43	5.00	5.43	7.71	7.82	7.28	7.69	6.83	7.71	7.50	7.84
LS	2.22	3.37	5.26	6.44	6.07	6.54	6.75	6.64	6.65	6.33	7.26
GSP 22°	2.22	3.52	3.26	3.26	3.92	3.82	3.12	3.07	3.96	4.18	5.07
GSP 4°	2.22	3.37	3.00	3.00	4.22	3.52	3.60	3.22	4.33	4.53	4.78
CFC 22°	-	-	-	4.07	5.18	4.94	4.40	4.20	4.73	5.57	4.84
CFC 4°	-	-	-	4.26	5.22	4.37	4.30	4.24	4.68	5.26	4.92
VL	<2.0	<2.0	<2.0	2.52	4.18	2.70	<2.0	<2.0	3.22	3.32	2.82
VG	2.22	3.22	2.52	3.26	5.07	4.72	3.72	4.18	3.71	4.46	5.71
En	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0
Kr	3.92	3.30	3.22	2.70	2.52	2.70	2.22	<2.0	2.22	2.52	<2.0
STAA	4.22	5.82	4.22	5.37	5.07	5.91	4.63	4.80	5.20	5.30	6.00
Ro	2.70	2.92	3.63	2.70	3.82	3.64	3.52	3.20	2.40	3.00	3.41
pH-Wert	5,9	5,9	6,1	5,8	6,0	5,9	5,7	5,7	5,9	5,9	5,9
D-Lactat mg/g	n.n.	Sp	0,18	0,68	0,94	0,97	3,27	3,29	4,51	3,10	3,75
Sensorik-punkte	0	0	0	3	4	9	11	12	12	12	12
aer. Haltb. (Tage)	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0

* Angabe der Keimzahlen als dekadische Logarithmen

V E R S U C H II (Fleischsaft)*

Lager-wochen	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ISO 30°	-	-	8.08	8.15	8.66	8.61	7.89	8.08	8.20	8.76	8.38
ISO 4°	-	-	8.56	8.73	9.04	9.00	8.78	8.62	8.51	8.99	7.94
La	-	-	8.26	8.26	8.64	8.81	7.89	8.30	8.34	8.30	8.32
LS	-	-	6.38	6.91	7.70	7.98	7.56	7.51	7.89	7.08	8.15
GSP 22°	-	-	4.78	5.04	5.41	5.57	4.49	4.62	5.34	5.36	6.23
GSP 4°	-	-	5.00	4.75	5.86	5.54	5.75	5.48	5.34	5.79	6.08
CFC 22°	-	-	-	6.94	7.08	7.15	6.08	6.51	6.71	6.99	6.08
CFC 4°	-	-	-	6.20	6.70	7.34	5.66	6.32	6.81	6.93	6.43
VL	-	-	<2.0	3.15	4.15	3.74	2.90	3.36	4.30	5.46	2.30
VG	-	-	3.34	4.78	6.08	6.56	5.18	6.23	6.26	5.82	6.26
En	-	-	<2.0	2.78	<2.0	<2.0	2.30	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0
Kr	-	-	4.30	4.00	3.94	3.20	<2.0	3.15	2.90	3.00	2.90
STAA	-	-	7.34	6.64	7.15	7.34	6.48	6.53	6.79	6.66	6.00
Ro	-	-	3.60	4.73	4.08	4.72	5.38	4.78	5.23	3.78	5.08
pH-Wert	-	-	6,0	5,7	5,6	5,9	5,6	5,9	5,8	5,8	5,8
D-Lactat mg/ml	-	-	0,18	2,20	2,39	1,20	4,00	2,65	3,26	3,76	4,55
Sensorik-punkte	0	0	0	3	4	9	11	12	12	12	12

* Angabe der Keimzahlen als dekadische Logarithmen

V E R S U C H III (Fleisch)*

Lager-wochen	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ISO 30°	4.37	4.52	7.64	6.48	6.70	5.87	7.10	6.24	6.10	6.37	6.68
ISO 4°	3.70	4.82	7.92	7.18	7.70	7.00	7.84	6.37	6.22	7.30	7.50
La	3.60	3.70	7.70	6.44	6.70	5.68	7.24	5.93	6.24	6.30	6.72
LS	<2.0	2.22	4.82	5.78	6.68	5.58	6.73	5.58	5.24	5.46	5.81
GSP 22°	2.52	3.12	3.07	2.22	3.18	4.00	3.41	3.81	4.07	4.12	4.24
GSP 4°	2.82	<2.0	3.00	2.82	3.48	3.77	3.56	3.72	3.91	4.07	4.78
CFC 22°	-	-	-	3.32	4.48	4.70	4.15	4.62	4.89	4.65	4.87
CFC 4°	-	-	-	3.37	4.26	4.70	3.81	4.50	5.35	4.72	4.72
VL	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	3.07
VG	<2.0	2.22	2.22	2.22	3.41	2.84	3.52	3.96	3.07	3.22	4.63
En	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0
Kr	3.07	3.00	2.70	2.70	2.82	<2.0	2.22	2.22	<2.0	<2.0	<2.0
STAA	2.70	2.82	5.52	3.58	3.48	4.18	3.57	4.07	3.77	3.70	4.26
Ro	2.52	2.52	<2.0	2.70	3.22	3.22	3.52	3.07	2.22	4.78	3.50
pH-Wert	5,5	5,5	5,6	5,5	5,4	5,2	5,2	5,2	5,1	5,1	5,2
D-Lactat mg/g	n.n.	Sp	Sp	1,36	2,64	3,27	5,46	5,53	6,13	6,12	6,34
Sensorik-punkte	0	0	0	7	0	5	11	11	11	12	12
aer. Haltb. (Tage)	3	3	2	2	1	1	2	2	1	0	0

* Angabe der Keimzahlen als dekadische Logarithmen

V E R S U C H III (Fleischsaft)*

Lager-wochen	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ISO 30°	-	5.60	7.20	7.78	7.78	7.86	7.76	7.00	7.28	7.45	7.45
ISO 4°	-	5.90	7.78	8.34	8.76	8.98	8.49	8.48	7.96	8.23	7.41
La	-	5.38	7.30	7.48	7.78	7.70	7.72	7.53	7.26	7.30	7.18
LS	-	3.53	6.76	7.00	7.38	7.15	7.28	6.68	6.28	6.91	7.00
GSP 22°	-	4.45	4.90	4.51	4.90	5.30	4.30	5.67	5.93	5.64	6.38
GSP 4°	-	4.60	4.90	4.62	4.45	5.15	4.61	5.18	5.76	6.30	6.08
CFC 22°	-	-	-	5.36	5.76	6.41	5.45	6.04	6.75	7.26	6.30
CFC 4°	-	-	-	5.48	5.92	6.76	5.67	5.88	6.97	7.34	6.38
VL	-	<2.0	<2.0	3.08	3.20	3.30	3.38	2.78	4.00	4.26	2.30
VG	-	3.60	4.08	4.48	5.20	5.45	4.96	5.26	5.28	5.38	5.08
En	-	2.30	2.90	2.60	<2.0	<2.0	2.30	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0
Kr	-	4.45	4.26	3.38	3.49	2.90	2.90	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0
STAA	-	5.41	5.78	6.00	6.30	6.23	5.78	6.00	6.26	5.38	5.26
Ro	-	3.78	5.47	4.00	4.30	4.60	4.90	4.90	4.64	5.97	4.66
pH-Wert	-	5,6	5,4	5,4	5,2	5,2	5,2	5,2	5,1	5,1	5,1
D-Lactat mg/ml	-	Sp	1,05	3,59	5,24	5,74	6,45	6,12	6,97	7,53	7,12
Sensorik-punkte	0	0	0	7	0	5	11	11	11	12	12

* Angabe der Keimzahlen als dekadische Logarithmen

V E R S U C H IV (Fleisch)*

Lager-wochen	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
ISO 30°	2.22	2.22	4.22	4.84	6.26	6.52	6.50	7.22	6.92	8.00	7.18	7.45	7.52	6.86	7.70
ISO 4°	<2.0	<2.0	3.70	4.70	6.33	7.26	7.40	7.73	8.00	8.18	7.92	8.26	8.12	6.92	7.70
La	<2.0	<2.0	<2.0	3.64	6.22	6.70	6.82	7.52	6.52	8.00	7.07	7.37	7.45	6.68	7.22
LS	<2.0	<2.0	2.22	2.92	2.82	3.30	4.70	5.82	6.48	7.38	7.22	6.92	7.07	6.07	7.22
GSP 22°	<2.0	<2.0	4.52	4.52	4.45	2.22	2.70	<2.0	3.52	4.18	5.33	5.60	4.12	3.92	5.18
GSP 4°	<2.0	<2.0	3.70	4.52	4.45	2.52	3.82	<2.0	3.72	5.30	5.30	4.70	5.07	4.12	5.18
VL	<2.0	<2.0	<2.0	4.00	3.70	4.82	3.70	4.00	4.22	4.22	4.52	3.52	4.82	<2.0	5.52
VG	<2.0	<2.0	<2.0	3.52	4.56	5.26	4.00	5.82	4.52	6.12	6.18	5.26	5.70	3.52	5.92
En	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0
Kr	<2.0	<2.0	2.22	2.92	2.22	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	4.00	<2.0	<2.0	2.22	<2.0
STAA	<2.0	<2.0	3.52	4.52	4.52	4.92	4.07	5.52	4.92	6.52	6.22	5.52	5.37	5.07	5.52
Ro	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	2.22	2.70	4.92	3.18	3.00	<2.0	<2.0
pH-Wert	5,7	5,7	5,7	5,7	5,8	5,8	5,6	5,7	5,8	5,7	5,5	5,7	6,0	5,5	5,8
D-Lactat mg/g	n.n.	n.n.	n.n.	Sp	n.n.	0,11	0,14	0,29	1,16	1,41	2,44	2,00	2,09	2,44	3,20
Sensorik-punkte	0	1	0	1	1	2	0	1	4	4	7	2	9	10	10
aer. Hbk. (Tage)	2	2	1	2	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0

* Angabe der Keimzahlen als dekadische Logarithmen

V E R S U C H IV (Fleischsaft)*

Lager-wochen	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
ISO 30°	-	3.60	6.40	7.38	8.51	8.48	8.38	8.51	8.00	8.81	8.26	8.51	8.78	8.20	8.51
ISO 4°	-	3.60	6.40	7.30	8.41	8.48	9.08	9.08	8.20	9.04	8.38	9.04	8.78	8.26	8.86
La	-	3.30	4.40	6.00	8.38	8.08	8.00	8.51	7.90	8.64	7.93	8.53	8.75	7.78	8.00
LS	-	3.30	3.30	5.00	5.90	5.78	7.30	7.30	7.08	8.08	7.62	8.08	8.41	7.00	8.00
GSP 22°	-	3.30	6.70	7.15	6.90	5.26	7.34	4.78	5.20	7.60	5.70	5.90	6.08	5.30	7.07
GSP 4°	-	3.20	6.90	7.30	7.34	5.51	5.34	4.78	5.60	6.00	5.20	6.08	7.08	5.30	7.20
VL	-	<2.0	4.30	6.26	6.90	6.26	7.30	6.60	6.60	6.00	6.48	6.90	6.90	3.30	7.38
VG	-	<2.0	4.30	6.26	7.15	6.58	7.30	6.88	6.90	7.60	6.60	7.26	7.58	5.60	7.00
En	-	<2.0	<2.0	<2.0	2.30	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0
Kr	-	2.78	3.30	3.00	2.30	<2.0	<2.0	2.30	<2.0	2.30	4.64	<2.0	<2.0	<2.0	3.38
STAA	-	3.60	6.00	7.11	7.48	7.00	6.95	7.36	7.00	7.60	6.96	6.90	7.00	6.51	7.08
Ro	-	<2.0	<2.0	<2.0	3.30	<2.0	<2.0	<2.0	<2.0	4.60	4.78	2.78	3.78	<2.0	<2.0
pH-Wert	-	5,5	5,7	5,7	5,7	5,7	5,7	5,7	5,6	5,7	5,6	5,7	6,0	5,7	5,7
D-Lactat mg/ml	-	n.n.	Sp	Sp	0,14	0,44	0,42	2,34	2,53	2,45	3,42	2,33	3,13	2,78	4,82
Sensorik-punkte	0	1	0	1	1	2	0	1	4	4	7	2	9	10	10

* Angabe der Keimzahlen als dekadische Logarithmen

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. Sinell für die Überlassung des Themas und für seine Unterstützung bei dieser Arbeit herzlichst danken.

Gleichfalls gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. Hildebrandt und den Mitarbeitern der Fachrichtung Lebensmittelhygiene sowie Frau Dr. Arndt vom Institut für Biometrie des Fachbereiches Veterinärmedizin für ihre statistische Beratung.

L E B E N S L A U F

14.09.1948	als Sohn des Metzgermeisters Hans Wiegner und seiner Ehefrau Anni, geb. Janner, in Nürnberg geboren
1954 - 1958	Besuch der Volksschule der Stadt Nürnberg
1958 - 1964	Aufbauzüge der Volksschule der Stadt Nürnberg, Abschluß mit der Mittleren Reife
1964 - 1967	Lehre als Metzger im elterlichen Betrieb, Abschluß mit der Gesellenprüfung
1967 - 1969	als Geselle im Raum Süddeutschland tätig
1969 - 1971	Wehrdienst bei der Bundesluftwaffe
1971 - 1974	Studium der Lebensmitteltechnologie an der Technischen Fachhochschule Berlin, FB 14 Abschluß als Ing.-grad.
1974 - 1979	Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin
Sept. 1979	Approbation als Tierarzt
seit 1977	studentischer Mitarbeiter am Institut für Lebensmittelhygiene, Fleischhygiene und -technologie, Fachrichtung Lebensmittelhygiene des Fachbereiches Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin
seit Jun.1980	wissenschaftlicher Mitarbeiter am gleichen Institut

Papyrus-Druck GmbH Berlin ☎ 3416451
Dissertationen